FORSCHUNGEN
AUF DEM
GEBIET DER PFLANZENKRANKHEITEN

Herausgegeben von

Prof. Dr. Shigeyasu Akai
Universität zu Kyoto

Heft V, Nr. 1.

Kyoto, Japan
1954

目　次

Inhaltsübersicht

Studies on Helminthosporium Blight of Rice Plants*

I. On the Resistance of Varieties of Rice Plants to Helminthosporium Blight

By

Shigeyasu AKAI and Yasuji ASADA

With 13 tables and one textfigure

I. Introduction

It is a well known fact that the extent of damage or the disease susceptibility in crops is different with different varieties. Up to the present, there have been a large number of investigations about the resistance in plants, yet little is known of the problem concerning the mechanism of disease resistance in plants. The disease resistance in plants has been usually discussed from the morphological, physiological and chemical view points of cells and especially the latter two cases are understood as a defence reaction of protoplasm of cells resulting from the struggle between host cells and pathogenic fungi. We should, therefore, clear up the interrelations between cells and pathogenic fungi, investigating them from both sides of host plants and pathogenic fungi respectively.

SETO (18) discussed the resistance in rice plants to Bakanae-disease causing the elongation of seedlings, and reported that the resistance is made up of two components: the resistance to penetration and that to disease occurrence. KAWAMURA and ONO (10, 16) also discussed the resistance of rice plants to blast disease. They found the inhibiting effect to the conidia germination of the causal fungus, in dew drops which were gathered from the leaf-blades of a certain variety of rice plant. They also attempted to classify the resistance into three categories: resistance to conidial germination, resistance to penetration, and that to disease occurence.

The present study reported here was made for the purpose of securing more detailed information concerning the resistance to Helminthosporium blight of rice plants using the three varieties, Kameji, Norin No. 6, and Magatama.

The writers wish to express our best thanks to the members of our Laboratory and to Mr. K. YOKOGI, Shimane Agricultural Experiment Station, for their kind help. The present study has been made in part by the aid granted for scientific

---

* Contributions from the Laboratory of Phytopathology, Kyoto University, Kyoto, Japan. No. (n. s.) 11.

research by the Ministry of Education. We also wish to express our grateful acknowledgment.

II. Materials and method

Three varieties of rice plants, Kameji, Norin No. 6, and Magatama were used. From the field observations in Shimane Agricultural Experiment Station, they are considered as being resistant, intermediate-resistant, and susceptible respectively. The seeds treated with formalin were sown on sand in earthen pots, and the seedlings, when they grew about ten cm. long, were transplanted on sandy loam in 1 : 50,000 Wagner's pots. The inoculation experiments of conidiospores of the causal fungus, *Cochliobolus miyabeanus*, cultivated for twenty days on potato-decoction agar with one per cent sucrose, were carried out by atomizing method. After the inoculation, the plants were held for 48 hours at 28°C. in the inoculation chamber, and then transfered into a green house. After seven to ten days, spots produced on the inoculated leaves were measured. We also made the inoculation experiments by means of the floating-leaf method on spores-suspension in Petri-dish. The five cm. long pieces of leaves were cut off from the center of the second leaf from the top, and they were floated on 20 cc. of the conidia-suspension of the causal fungus in Petri-dish in contact with the upper surface of the leaf. The Petri-dishes were kept for twenty four hours at 28°C., and after two days the measurements were made.

The germination experiments were carried out by means of the slide-germination method in a glass-dish reported by HEMMI and ABE (6), keeping it for six hours at 28°C., and measured.

The ash-figures of leaves were also investigated with the modified Werner's apparatus (15). We have compared the silicification degree of epidermal cell walls of the three varieties tested, measuring silicated epidermal cells in 400 fields of the optical microscope.

III. Results of the experiments and discussion.

(1). **Inhibiting effect to conidia-germination in dew drops on leaves of rice plants.** Recently KAWAMURA and ONO (10, 16) reported the inhibting effect to the germination of conidia of *Piricularia oryzae* in dew drops gathered from leaves of the resistant variety. With the aim of establishing the KAWAMURA and ONO's opinion, we also made the germination of conidia of *Cochliobolus miyabeanus* in dew dreps. In the early morning of an August day, when the rice plants had grown about eighty cm. long, we gathered the dew drops into a beaker with glass-rod from leaves of the three varieties respectively, and the conidia germination was performed immediately (table 1).

Table 1. Germination experiments of conidia of *Cochliobolus miyabeanus* in dew drops gathered from the leaf-blades of every variety of rice plants used. Average of 3 replications.

Variety	Number of spores measured	Number of spores germinated	Per centage germination	Ratio in the case of the control 100	Susceptibility in the field condition
Check lot in distilled water	751	694	92.5	100	....
Magatama	812	785	90.6	99	susceptible
Norin No. 6.	773	720	93.2	101	intermediate-resistant
Kameji	836	761	91.1	98	resistant

In these experiments, we could not find enough differnece in germination to detect the inhibiting effect in dew-drops of every variety used. KAWAMURA and ONO (10), in their study on blast disease, compared the conidia germination and appressoria formation in dew drops gathered from leaves of three varieties, Kannon-sen (resistant), Kameji (resistant), and Kairyo-Shinriki (susceptible). Poor germination of conidia was obtained in dew drops of Kameji and good germination in those of Kairyo-Shinriki and Kannon-Sen. They interpreted this phenomenon as an effect of toxic action of a certain volatile substance in the resistant host cells which dissolved into the dew drops. Inspite of their interpretation, the dew drops on resistant variety, Kannon-Sen, permitted the good germination of conidia. Considering these results, we assumed that such a germination-inhibiting effect of dew drops might be found in a peculiarly limiting case only.

(2). **Resistance to Penetration.** *Cochliobolus miyabeanus* can invade the rice plant by directly penetrating cuticle of epidermal cell walls (28). It is generally believed that the resistance to penetration is mainly attributed to the mechanical character of epidermis. CURTIS (4) observed the defending effect of cuticle of the host to the invasion of *Sclerotinia cinerea*. ITO and SHIMADA (8, 20) also observed the reduction in resistance of rice plants to the infection of blast disease fungus, when the cuticle of epidermis was ruptured by wounding.

In order to clarify the relation of epidermis to the resistance to Helminthosporium blight, we made the investigations on some mechanical characters of epidermis measuring the silicification, thickness and the toughness of their walls. At first, we measured the number of silicated epidermal cells in unit area of leaf by means of ash-figure method (1), to compare the degree of silicification of epidermis in adult leaves in each of the three varieties tested. The results are shown in table 2.

The silicification of epidermal cell wall in the resistant variety Kameji is better than that of Magatama. The difference, however, is very small.

We have also measured the thickness of the epidermal cell wall of leaves. The thickness of epidermal cell wall in Kameji is measured about 1.8 μ,

Table 2. Comparison of the silicification of epidermal cell wall in adult leaves between the different varieties of rice plants. Average results of leaves (first to third).

variety	number of silicated epidermal cells per 100 fields of microscope					
	bulliform cells	long cells	short cells	stomatal cells	total number	total ratio
Magatama	26	22	6	14	68	72
Norin No. 6	41	17	4	13	75	80
Kameji No. 1	46	28	5	14	93	99
Kameji No. 2	30	38	9	17	94	100

and that of Magatama is 1.5 μ, being about 17% thinner than that of Kameji. Norin No. 6 has the thinnest (table 3).

Table 3. Comparison of the thickness of epidermal cell wall in the middle part of upper most (boot) leaves of the three varieties of rice plants. Average of three replications

variety	thickess of epidermal cell wall μ	ratio
Magatama	1.5	83
Norin No. 6	1.1	61
Kameji	1.8	100

In accordance with IKATA et al. (7), the leaves of the resistant variety of rice plants to blast disease have thicker walled epidermis than the susceptible one. IKATA, however, said that there might be some doubt about the relation between the thickness of the epidermal cell wall and the resistance to blast disease, because they could not observe a similar relation in the pedicels of spikes. CSORBA (3) also stated that the epidermal cell wall of the resistant variety of apple to powdery mildew is about twenty four per cent thicker than that of the susceptible variety.

The toughness of epidermis is considered to be an important factor in the resistance to penetration. HAWKINGS and HARVEY (5) imputed the resistance to the attack of *Pythium debaryanum* to the resisting power of cell wall to pressure, and IKATA et al. (7), YOSHII (29, 30, 31, 32), and ITO and SHIMADA (8) also measured the toughness of epidermis of rice leaves with Jolly balance. We also made the measurement on the toughness of epidermis of leaves for comparing the resisting power of epidermis to the cuticlar infection of *Cochliobolus miyabeanus* in each of the three varieties. We devised a simple apparatus as shown in fig. 1. S is celluloid plates holding a piece of rice plant leaf between them. The needle (H) of the balance comes in touch with the leaf-blade in the central hole (L) of the celluloid plate. By dropping distilled water from P into beaker (B), we determined

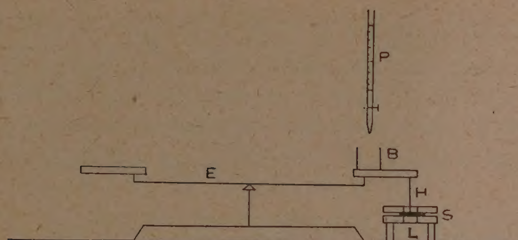


Fig. 1. Apparatus for measuring the toughness of leaf-blade of rice plants.
B: beaker, E: balance, H: needle, L: central hole of the celluloid plate, P: pipette, S: celluloid plate.

the point where the needle (H) penetrated the leaf blade, and then measured the amount of water in the beaker. The toughness of rice leaves is represented in the following formula.

$$P=1/4\,\gamma\pi\,D^2H$$

where P : toughness of rice leaves in gr.
γ : specific gravity of water
D : diameter of beaker (B), cm.
H : depth of water in beaker (B), cm.

Compensated with temperature, results of ten replications in each variety are shown in table 4.

Table 4. Comparison of the toughness of leaf-blades of rice plants resisting to needle puncture. Average of ten replications.

variety	resistance to needle puncture gr.	ratio
Magatama	8.24	73
Norin No. 6	9.78	87
Kameji	11.30	100

In the present experiments we found that the toughness of epidermis was parallel to the degree of disease resistance in the varieties used, and Kameji showed the highest value among the three varieties.

In order to secure a more detailed conception of mechanical resistance, we have made the inoculation experiments of *Cochliobolus miyabeanus* on leaves of rice plants, epidermis of which were artificially wounded by slightly rubbing both sides of the leaves with sand paper.

The results of inoculation by atomizing or the floating-leaf method are shown in table 5 and 6.

Table 5. Comparison of the susceptibility of sound and wounded leaves of rice plants to Helminthosporium blight* Average of three replications

variety	sound leaves			**wounded leaves			reduction degree in resistance (b/a)
	number of leaves measured	*** number of spots in unit area of leaf (a)	ratio	number of leaves measured	*** number of spots in unit area of leaf (b)	ratio	
Magatama	145	8.08	100	121	23.46	100	2.9
Norin No. 6	142	7.89	98	136	21.81	83	2.8
Kameji	125	3.84	48	115	18.03	77	4.7

* Inoculation was made by atomizing method

** artificially wounded by sand paper

*** $\left(\frac{\text{number of spots in a leaf}}{\text{area of leaf}}\right) \times 10$, area of leaf was estimated as (length × width) × $^1/_2$

Table 6. Inoculation experiments of conidia of *Cochliobolus miyabeanus* by means of floating-leaf method on spores-suspension in Petri-dish. Average of three replications

variety	sound leaves			* wounded leaves			reduction degree in resistance (b/a)
	** number of leaves measured	*** number of spots in unit area of leaf (a)	ratio	** number of leaves measured	*** number of spots in unit area of leaf (b)	ratio	
Magatama	25	41.2	100	25	98.9	100	2.4
Norin No. 6	25	12.4	30	25	90.1	91	7.3
Kameji	25	14.8	36	25	86.5	87	5.8

* artificially wounded by sand paper

** five cm. long pieces were cut from the middle part of leaves.

*** $\left(\frac{\text{number of spots in a leaf}}{\text{area of leaf}}\right) \times 10$

Regardless of the inoculating methods, wounding resulted in an increase in the number of spots on leaves of all the varieties used. The reduction-degree in resistance due to wounding (b/a in table 5 and 6) is markedly higher in Kameji than in Magatama. This fact seems to show that the epidermis of sound leaves in Kameji plays a considerable role in the enhancement of the structural resistance to infection. Nevertheless, the number of spots on wounded leaves of Kameji is still the smallest. For interpretation of these results, further considerations on the resistance based on the physiological activity of protoplasm should be made. Wounding, however, probably brings about the internal disorder in protoplasm of cells, increasing their

susceptibility to disease, and also seems to cause changes on the plant surface which aids glueing up of spores. Therefore, there may be considerable difficulty in saying that the reduction in disease resistance of wounded leaves is dependent entirely upon the loss of mechanical resistance in epidermis. ITO and SHIMADA (8) have pointed out that wounding on leaves enhanced the susceptibility in rice plants to blast disease.

With regard to wounding, we performed inoculation experiments of the present fungus to wheat leaves (variety Nishimura) (table 7).

Table 7. Inoculation experiments* of conidia of *Cochliobolus miyabeanus* on sound and wounded leaves of wheat seedlings. Average of two replications.

condition of leaves	number of plants tested	number of spots per unit area of leaf
control	52	0
sound leaves	264	0
wounded leaves	283	5.6

* immediately after the inoculation, plants were held in a moist chamber regulated at 28° C. After five days, plants were transfered into green house. Measurement of diseased plants were performed after one week.

Uninjured sound leaves of wheat were never affected by the fungus used. The leaves wounded by sand paper, however, revealed blackish brown ellipsoid or spindle-shaped spots. They measured ca. 1–3 × 0.5–1mm. We reisolated the causal fungus from these spots and confirmed it as being the causal fungus of Helminthosporium blight of rice plants.

It is clear that young seedling leaves have an epidermis inferior in structure to adult leaves. We have also compared the susceptibility to Helmintho-sporium blight in adult and seedling leaves of rice plants. The results of the

Table 8. Comparison of the susceptibility of adult and seedling leaves of rice plants to Helminthosporium blight. Average of three replications

variety	seedling leaves			adult leaves			reduction degree in resistance b/a
	number of leaves measured	number of spots in unit area of leaf (a)	ratio	numbet of leaves measured	number of spots in unit area of leaf (b)	ratio	
Magatama	336	1.27	100	145	8.08	100	6.4
Norin No. 6	358	1.33	105	142	7.89	98	5.9
Kameji	321	0.90	71	125	3.84	48	4.3

inoculation experiments are shown in table 8.

As it is clear in table 8, the susceptibility to infection in adult leaves is markedly high, compared with that of seedling leaves, and the number of spots in adult leaves is four to six times that of seedling leaves, in inverse proportion to the maturity of leaves. In this case, we also obtained the smallest number of spots in seedlings of Kameji as well as in adult leaves, and the largest number in Magatama. This is not explained from the mechanical structure of epidermis only.

(3) **Resistance to disease occurrence.** The disease resistance based on the physiological function of protoplasm is often called "functional resistance" (23). The resistance to disease occurrence may be attributed to the physiological activity of protoplasm, and this resistance comes out in plant cells, when the invasion of pathogenic fungus takes place. We also made some considerations on this functional resistance.

It is generally believed that a strong solution of narcotics inhibits the function of protoplasm of cells, especially the activity of respiration enzym. On the contrary, very diluted narcotics stimulate the oxygen respiration (17, 19). There are a number of investigations on narcotizing plants. Narcotizing plants increase the susceptibility of cells to pathogenic fungi. Recently MIZUKAMI (12) studied the effect of ether to the occurrence of Helminthosporium blight in rice plants. He found that the reduction in resistance to the infection, increased with the number of spots on the leaves treated with ether. We also compared the effect of chloroform to the occurrence of the existing disease in three varieties. Three cc. of chloroform was sprayed on each pot and each pot was covered immediately with a bell-jar. After thirty minutes the bell-jar was removed and the plants were washed throughly with water. Then the inoculation of the causal fungus was performed. The results are shown in table 9.

All the seedlings of three varieties treated with chloroform, were equally attacked by the causal fungus with a different degree of reduction of resistance. In adult leaves, however, even in the narcotized condition, the number of spots differs with the variety, showing the smallest number of spots in Kameji. From these results, we considered that in seedling leaves there might be no relation between the mechanical structure of epidermis and occurrence of the existing disease, because of their immature development. In adult leaves mechanical structures of which have already been completed, the difference in the varietal resistance is remarkable, even when the plants were narcotized by chloroform. Consequently in the latter case we may have to recognize some correlation of mechanical structures to the disease resistance.

We also performed the inoculation of the causal fungus on leaves which were wounded by sand paper and narcotized with chloroform. A countless number of spots which fused each other, appeared on them. We could not measured the number of spots of inoculated leaves. However, there seemed to be no difference

Table 9. Inoculation experiments of *Cochliobolus miyabeanus* on leaves of rice plants treated with chloroform.

	variety	* untreated			**treated with chloroform			reduction degree in resistance (b/a)
		number of leaves measured	** number of spots in unit area of leaf (a)	ratio	number of leaves measured	*** number of spots in unit area of leaf (b)	ratio	
seedling leaves	Magatama	336	1.27	100	358	7.60	100	6.0
	Norin No. 6	358	1.33	105	366	7.52	99	5.7
	Kameji	321	0.90	71	383	7.82	103	8.7
adult leaves	Magatama	145	8.08	100	141	12.01	100	1.5
	Norin No. 6	142	7.89	98	134	13.82	115	1.7
	Kameji	125	3.84	48	120	8.45	70	2.2

* all measurements are the same as indicated in table 8. Average of three replications.
** average of two replications.
*** $\frac{\text{number of spots in a leaf}}{\text{area of leaf}} \times 10$

in the number of spots among the different varieties, all appearing to have about on equal number.

Some evidences have been presented involving the relation between tissue components and resistance to infection of causal fungus. According to MIYAKE and ADACHI (11), proteins, amino acids, sugars and others are abundant in the susceptible variety of rice plants to blast disease. Very recently TANAKA (21) has made the biochemical investigations on blast disease of rice plants and found abundant nitrogen in leaves. We have also determined the sugars and total nitrogen in leaves of rice plants and compared the difference between the varieties. The rice plants of each variety were cut on 20th October, 1950, and dried and crushed under room temperature. After holding it a night and day at 102 °C. in the desiccator, 5gr. of stra wdust of each variety was extracted for five days in 100 cc. of distilled water. Reducing sugar in three cc. of the extract was then measured by the Micro Bertrand method. The results are shown in table 10.

In the susceptible variety, Magatama we obtained a larger amount of total nitrogen and reducing sugar than in Kameji. Norin No. 6, however, has the smallest. Therefore, in these results we can not find a clear interpretation of the varietal resistance to the existing disease.

Some chemical compounds toxic to pathogenic fungi in expressed sap from plant cells are often found. NEWTON and his co-workers (13) observed the increased resistance to black rust of wheat, when the cell sap of resistant variety was

Table 10. Amount of reducing sugar and total nitrogen of leaves in each of the three varieties. Average of three replications.

variety	reducing sugar in 100 gr. of dry matter		total nitrogen per 100 gr. of dry matter	
	gr.	ratio	gr.	ratio
Magatama	1.432	100	2.54	100
Norin No. 6	0.596	42	1.88	74
Kameji	1.242	87	1.96	77

injected in the tissue of susceptible variety. They also obtained similar results, when the leaves of wheat were injected with a minute amount of phenol derivatives such as salicylic acid and catechol. Newton et al. (14) have actually established the presence of phenol derivatives in the expressed sap from wheat varieties. There are many investigations on toxic phenolic compounds in cell sap which seem to play an important role in disease resistance. Walker (24), Walker and Lindegren (25), Walker, Lindegren and Backmann (26) have pointed out that the resistance in colored varieties of onion to anthracnose depended upon the toxic principles in the colored outer scales. Angell, Link, and Walker (2), Walker and Link (27) have also reported that these substances in colored scales were phenolic compounds. They also pointed out that phenol, catechol and salicylic acid could prevent the growth of the causal fungus in sufficient low concentration, not injuring the function of host protoplasm. In establishing the presence of such substances in cell sap of rice leaves, the germination experiments of conidia of *C. miyabeanus* were carried out in expressed sap from the three varieties. One hundred gr. of leavesof rice plants, ca. sixty cm. in length, were cut off. After keeping them for two days at – 5°C. in the refligerator, cell sap was expressed from the leaves and immediately the conidia germination was carried out at 28°C. in the expressed sap of each variety. The results were recorded after six hours (table 11).

Table 11. Effect of cell sap of adult leaves of rice plants on the conidia germination of *Cochliobolus miyabeanus*. Average of three replications.

variety	number of spores measured	germination of spores			length of germ tubes	
		number of spores germinated	per cent germination	ratio	μ	ratio
check lot of dist. water	1351	1326	98.2	100	263.0	100
Magatama	1432	1389	96.9	99	237.5	90
Norin No. 6	1326	1288	97.1	99	187.5	71
Kameji	1452	1185	81.6	84	137.5	52

Judging from the results of table 11, there may be no distinct differene between the germination percentage of conidia, showing only a little suppression in the expressed sap of Kameji. The elongation of germ tubes, however, was checked remarkably in the sap of Kameji, showing a half length of the control. This inhibiting effect of the sap may have a close connection with the enlargement of spots. The germination of conidia was also performed in expressed sap which was autoclaved under one Atm. The results are shown in table 12.

Table 12. Effect of the autoclaved cell sap of rice plants leaves on conidia germination of *C. miyabeanus*. Average of three replications

variety	number of spores measured	germination of spores			length of germ tubes	
		number of spores germinated	per cent germination	ratio	μ	ratio
check lot of dist. water	1144	1125	98.5	100	241.5	100
Magatama	1285	1258	98.0	99	251.5	104
Norin No. 6	1016	1001	98.6	100	225.0	94
Kameji	1121	1095	97.6	99	236.0	98

There was no suppressive effect on the germination of conidia in the expressed sap of each variety. The inhibiting effect to conidia germination, therefore, may depend upon a certain heat-unstable substance, but not upon the nutrient substances being contained in the sap. However, we did not determine it definitely. Johnstone (9) observed the relation of the expressed sap of leaves to the resistance of apple to the attack of *Venturia inaequalis*. He found the inhibiting effect to spore germination in cell sap of the resistant variety, especially in young leaves. Torigata (22) has studied the nature of resistance in Japanese pear to the attack of *Alternaria kikuchiana*. He, however, could not find any definite effect to the germination of conidia in water extract of leaves.

In the course of the present observations, we found two types of large and small spots of Helminthosporium blight in rice leaves. In this case, the small spots measured less than 0.5mm. in diameter. We have compared the number of both large and small spots in unit area of leaf among three varieties (table 13). Average number of large and small spots measured nearly equal in Magatama and also in Norin No. 6. In Norin No. 6, however, the number of large spots were slightly less than the number of small spots. On the contrary in Kameji, we found many small spots. They measured twice the number of large spots. We have compared the developing rate of these spots in leaves of each variety.

Table 13 Average number of large and small spots of Helminthosporium blight in young seedling leaves of rice plants inoculated by *Cochliobolus miyabeanus*. Average of three replications.

variety	average number of large spots in the area of ten cm^2. of leaf (a)	average number* of small spots in the area of ten cm^2. of leaf (b)	total number of a and b	difference, a–b
Magatama	0.67	0.61	1.28	+ 0.06
Norin No .6	0.60	0.73	1.33	– 0.13
Kameji	0.24	0.47	0.71	– 0.23

* less than 0.5 mm. in diameter.

Table 14. Enlargement of spots on leaves of rice plants inoculated by conidiospores of *Cochliobolus miyabeanus*.

variety	enlargement of area of spot per day in the first week after the inoculation mm^2.	enlargement of area of spot per day in the second week after the inoculation mm^2.
Magatama	0.14	0.46
Norin No. 6	0.08	0.21
Kameji	0.04	0.14

According to the results of table 14, spots of Magatama leaves spread three times more rapidly than that of Kameji. These facts may be also attributed to the defending reaction of protoplasm, which is different in each variety, to the invasion of *Cochliobolus miyabeanus*.

IV. Résumé

In the present paper we have made the comparison of the morphological and physiological characters among three varieties of rice plants, Kameji (resistant), Norin No. 6 (intermediate-resistant) and Magatama (susceptible), with the aim of securing a more detailed conception of the nature of resistance to Helminthosporium blight.

At first we made the germination experiments of conidia of *Cochliobolus miyabeanus* in dew drops which were gathered from the leaves of the three varieties respectively. We could not detect the inhibiting effect in any of the dew drops.

To compare the resistance to penetration, we measured the thickness and the silicification of epidermal cell wall, and also the toughness of epidermal cell wall to needle puncture. The Kameji surpassed in every morphological character among the varieties. Norin No. 6 generally revealed the intermediate value between them.

The inoculation experiments of conidia of the causal fungus on the artificially wounded adult leaves were performed. Woundling resulted the increase in number of spots on leaves in each of three varieties.

We compared the susceptibiliy of adult and seedling leaves to Helminthosporim blight. The seedling leaves showed high resistance to the disease occurrence, in spite of their immature development of mechanical structures. In both adult and seedling leaves Kameji also revealed the highest resistance indicating the smallest number of spots.

The inoculation experiments of the causal fungus on the narcotized leaves with chloroform were also carried out. All the seedling leaves of the three varieties treated with chloroform were equally attacked by the causal fungus. In adult leaves, however, even in the narcotized condition, the number of spots differed with the variety. In this case was also found the smallest number of spots on leaves of Kameji.

The content of total nitrogen and sugars in each of the varieties was measured. The susceptible variety had a larger amount of total nitrogen and sugars than the resistant variety.

In the expressed sap of leaves in each of varieties, we have made the germination experiments of conidia of the causal fungus. The expressed sap from the resistant variety suppressed remarkably the elongation of germ tubes, but not the germination of conidia. The autoclaved sap, however, lost such a suppressive effect.

In the course of the present observations, we found two types of large and small spots of this disease. In this case, the small spots are measured less than 0.5 mm. in diameter. Average number of large and small spots in Magatama was nearly equal. In Kameji, however, we found abundant small spots on leaves about twice the number of large spots. In susceptible variety, Magatama, necrotic lesions spread three times more rapidly than that of Kameji.

References cited

1. Akai, S.: Ann. Phytopath. Soc. Japan, 7: 173–192, 1938.
2. Angell, H. R., J. C. Walker and P. Link: Phytopath., 20: 431–438, 1930.
3. Csorba, Z.: Zeitschr. f. Pflanzenkr., 45: 280–296, 1935.
4. Curtis, K. M.: Ann. Bot., 42: 39–68, 1928.
5. Hawkins, Z. A. and R. B. Harvey: Journ. Agr. Res., 18(5): 275–297, 1919.
6. Hemmi, T. and T. Abe: Contributions to the improvement of agriculture, Ministry of Agriculture and Forestry, 47, 1932.
7. Ikata, S., G. Matsuura, and S. Taguchi: Ibid., 20, 1931.
8. Ito, S. and S. Shimada: Ibid., 120, 1937.
9. Johnstone, K. H.: Journ. Pomol. and Hort. Sci., 9: 195–227, 1931.
10. Kawamura, E. and K. Ono: Journ. National Agri. Exper. Sta., 4: 1–12, 1948.
11. Miyake, K. and M. Adachi: Journ. Bioch. 1: 223–239, 1922.

12. Mizukami, T. : Sci. Bull. Fac. Agr., Kyushu Univ., 12(1) : 1–4, 1950.
13. Newton, R., J. V. Lehmann and A. E. Clarke : Canad. Journ. Res., 1(1) : 1–35, 1929.
14. ———, J. A. Anderson : Canad. Journ. Res. 1(1) : 86–99, 1929.
15. Ohara, K aud Y. Kondo : Journ. Pharmac. Soc. Japan, 49(11) : 1036–1048, 1929.
16. Ono, K. : Agriculture 3(3) : 28–34, 1949.
17. Sakamura, T. : Plant Physioiogy, 365–367, 1943.
18. Seto, F. : Mem. Coll. Agr. Kyoto Imp. Univ., 36 : 1–81, 1935.
19. Shibata, K. and H. Tamiya : Respiration and fermentation, Biology (Iwanami), 5, 1930.
20. Shimada, S. : Ann: Phytopath. Soc. Japan, 5(1) : 64, 1935.
21. Tanaka, S. : Agri. Technique, 6(5) : 1–3, 1951.
22. Torigata, H.. Journ. Hort. Assoc. Japan, 16 : 181–191, 1947.
23. Tochinai, Y. : Forsch. a. d. Geb. d. Pflanzenkr. 4 : 1–7, 1951.
24. Walker, J. C. : Journ. Agr. Res., 24 : 1019–1040, 1923.
25. ———, C. C. Lindegren : Ibid. : 29 : 507–514, 1924.
26. ———, ———, and F. M. Backmann : Ibid., 30 : 175–187, 1925.
27. ———, K. P. Link : Bot. Gaz., 99 : 468–484, 1935.
28. Yoshii, H. : Ann.Phytopath. Soc Japan, 9(3) : 170–172: 1939.
29. ——— : Bul. Sci. Fak. Terkul., Kyusu Imp. Univ., Hukuoka, 9(3) : 277–291, 1941.
30. ——— : Ibid., 9 (3) : 292–296, 1941.
31. ——— : Ibid., 9(3) : 297–307, 1941.
32. ——— : Ann. Phytopath. Soc. Japan, 11(2) : 81–88, 1941.

On the Effect of Expressed Sap of Plant Cells upon the Activity of Protopectinase of *Bacillus carotovorus.* *

Shigeyasu AKAI and Chikao OISHI

with two tables

It has long been shown that the maceration of plant tissues is caused essentially by the action of pectic enzymes. In 1886 deBARY (3) first made an extract of a pathogenic fungus, *Sclerotinia liberiana*, causing the brown rot of cherry, and proved a possibility of the maceration of plant tissues in the absence of the microorganism. Hence many investigators (1, 2, 4, 5, 6, 7, 8) have found protopectinase or pectinase to be present in pathogenic fungi and bacteria. JONES (7) separated the protopectinase from *Bacillus carotovorus* by various methods and found a good correlation between the rate of growth of the organism and the amount of enzymes produced. Investigations on the activity of protopectinase of *Bacillus carotovorus* has also been performed in our Laboratory. *** Evidences, in which the correlation between enzymes and the resistance of host plants is discussed are not in abundance.

Cell sap in living plant tissues may probably has an important part in the physiology of cells. KLOTZ (9) actually performed the investigation on the relation between expressed sap of host plant cells and the activity of enzymes of pathogenic fungi.

In the course of the investigations on the activity of protopectinase secreted by *Bacillus carotovorus*, we tested the effect of expressed sap of various plant tissues on the enzyme activity. Radish, carrot (root), onion (bulb), potato tubers, cucumber (fruit), and squash (fruit and petiole) were used. They were crushed and expressed juice. The expressed juice was centrifuged five minutes with 2500 rotations per minute, to remove mixtures. These were used after storage in refrigerator. Juice of petioles of squash, however, was expressed after freezing them. pH of the expressed juice was in the range of 5.4 - 6.8, as in the following table. pH of onion bulb was most acid showing pH 5.4.

---

* Contributions from the Laboratory of Plant Pathology, Kyoto University, No. 30.
We are indebted to Professor YOSHII, Kyushu University, for his kindness in sending a culture strain of *Bacillus carotovorus*. We express hearty thanks.

*** unpublished data.

Table 1. pH of expressed cell sap of various plants used

Name	Plant part used	pH
radish	root	6.2
onion	bulb	5.4
cucumber	fruit	6.4
squash	fruit	6.8
squash	petiole	6.6
potato	tuber	6.2
carrot	root	6.4

Bouillon media, in which the causal bacteria was cultured five days, was used as a crude enzyme solution. Two cc. of the culture solution was added on two cc. of the expressed juice.

The activity of protopectinase was determined by Brown's mechanical method (1, 2), i. e., small slices of radish root (1 cm. in diameter and 0.5 mm. in thickness) were thrown into these fluid, and the maceration time of slices was measured. Thus, the activity was calculated from the following formula.

$$y = \frac{a}{x} \times 100$$

where x : hours (minutes) in maceration of slices.
y : activity of protopectinase.
a : minimum hours (minutes) in maceration of slices.

To avoide the influence of pH in the solution, we also tested the activity after adjusting the hydrogen-ion concentration with N/10 NaOH at pH 8. This is the optimum pH for the activity of the enzyme. The maceration of slices was carried out in an incubator of 45 °C. Results are shown in the following table.

Table 2. Effect of expressed sap of various plant tissues upon the activity of protopectinase secreted by *Bacillus carotovorus* in Bouillon media.

Juice of plants added	pH	Maceration time (min.)	Activity
radish	6.8	100	80
onion	6.4	120	67
cucumber	7.0	110	73
squash (fruit)	7.0	115	70
squash (petiole)	7.0	∞	trace
potato	6.8	125	64
carrot	6.8	100	80
* control	7.4	110	73
radish	***8.0	60	133
onion	8.0	45	178
cucumber	8.0	80	100
squash (fruit)	8.0	80	100
squash (petiole)	8.0	300	27
potato	8.0	70	114
carrot	8.0	55	145
* control	8.0	70	114

**enzyme destroyed		80	100
original culture		50	160

* culture solution was diluted twice with distilled water.
** two cc. of culture solution, enzyme of which was destroyed by boiling ten minutes, was added to two cc. of not-boiled culture solution.
*** pH adjusted

From these results, it is clear that the activity of the enzyme is more intensive in the plots where pH was adjusted.

Cell sap which was expressed from onion, radish, and carrot tissues generally accelerated the activity, and the others rather inhibited. Inhibition in sap of squash petiole is in particular severe. This especially renders us to assume an inhibitory substance in petiole of squash. While, radish, onion and carrot are susceptble hosts to *Bacillus carotovorus*, and squash is generally considered to be non-susceptible.

Résumé

In the present paper we examined the effect of cell sap of various plant tissues upon the activity of protopectinase of *Bacillus carotovorus*. The expressed sap of radish, carrot and onion accelerated the activity of the enzyme, especially at pH 8, and the juice of squash petioles inhibited the activity markedly.

References cited

1. Brown, W. : Ann. Bot., 29 : 313, 1915.
2. Brown, W : Ibid., 31 : 489, 1917.
3. DeBary, A. : Bot. Zeit., 44 : 378, 1886.
4. Harter, L. L. and Weimer, J. L. : Journ. Agr. Res., 21 : 609, 1921.
5. Harter, L. L. and Weimer, J. L. : Ibid., 22 : 371, 1921.
6. Harter, L. L. and Weimer, J. L. : Ibid., 24 : 861, 1923.
7. Jones, R. L. : New York State Agr. Exp. Sta. Techn. Bull. 11, 1909.
8. Kertesz, Z. I. : Erg. Enzymforsch., 5 : 233, 1936.
9. Klotz, L. J. : Science, 66 : 631, 1927.

腐敗菌属（*Pythium*）の子苗に対する病原性に就いて*

高橋　実・森本泰二

TAKAHASHI Minoru and Taiji MORIMOTO : On the Pathogenicity of Pythiaceous Fungi to Plant Seedlings.

1. 緒　言

腐敗菌属，*Pythium* に属する種類は極めて多く，水陸いたるところに棲息して殺生或は腐生栄養を営んでいる．これ等の菌類は種々の子苗の立枯及び根腐を原因するので，*Rhizoctonia*, *Fusarium* 等の菌類と共に苗圃に於ける重要病原菌として知られているが，更に南瓜，西瓜，胡瓜等の青果類，馬鈴薯，甘藷，ショウガ等の塊茎，塊根の腐敗を原因し，麦類の雪腐れ，稲苗の腐敗等をも基因するので，その被害は著しい．

高橋 (5) はさきに京都近郊に於いて採集した数種の *Pythium* 属菌の分類について報告したが，更にこれらの病原菌の病原性並にそれ等に対する寄主植物の感受性について実験を行ったので，その結果を報告する．

稿を草するに当り，御指導を賜った逸見名誉教授，赤井教授に深甚の謝意を表する．また御援助を戴いた細辻豊二氏，中里裕亮氏に感謝する．尚農作物種子を供与せられたタキイ種苗会社，滋賀種苗会社に謝意を表する．

2. 実験材料及び方法

接種に供した病原菌は胡瓜苗立枯病菌 *Pythium debaryanum*, トロロアオイ苗立枯病菌 *P. ultimum*, トマト根腐病菌 *P. vexans*, 胡瓜果綿腐病菌 *P. aphanidermatum*, ショウガ腐敗病菌 *P. zingiberum*, ヘチマ苗立枯病菌 *P. hemmianum*, 水生菌 *P. monospermum* 及び蚕豆立枯病菌 *P.* sp. の8種類である．各菌は玉蜀黍煎汁寒天上に 3〜4 日間，30 °C.を以て扁平培養した後に接種源とした．

供試植物には供試菌を分離した上記寄主植物の外 2, 3 の植物を供用したが，殺菌土壌に育成した子苗が3-4cm. に達したとき，径5寸の植木鉢に移植して使用した．苗が活着後，予め培養しておいた病原菌の菌叢を寒天と共に細切して，1鉢当り 1/2 シャーレ量を土壌表面に撒布して接種したが，その後充分に灌水して，28 °C. の京大式恒温接種箱に 29〜30 時間保った後，取出して温室内に移した．測定は接種7日後に行い，倒伏した苗数を以て表わした．

3. 実験結果

(1) *Pythium* 属菌の各種子苗に対する接種試験

前述の方法により，*Pythium* 菌の病原性を比較するために，トマト（ポンテローザ種），茄子（三尺長茄），胡瓜（節成種），南瓜（甘栗種），トロロアオイ，アサガオ，菜豆，水稲（京都旭種）を供試した．実験は3回反覆したが，結果は第1表の通りである．

下表で明らかな様に，トマト，胡瓜，トロロアオイ，アサガオ等は *P. monospermum* 及び *P. vexans* を除いた他の供試菌に対して極めて感受性が高いが，南瓜，菜豆，水稲は著しく抵抗性である．而して供試菌の中

第1表　*Pythium* 属諸菌に対する各植物の罹病率

供試菌	トマト	茄子	胡瓜	南瓜	トロロアオイ	アサガオ	菜豆	水稲
Pythium ultimum	96.1%	75.0%	100.0%	10.0%	100.0%	100.0%	3.1%	1.7%
P. debaryanum	96.1	51.0	92.5	4.4	100.0	94.3	1.7	2.5
P. vexans	46.7	0.0	9.3	0.0	25.0	60.0	0.0	0.0
P. hemmianum	61.5	46.9	45.4	5.6	75.0	88.6	2.5	2.5
P. zingiberum	96.1	96.3	90.9	2.2	100.0	71.4	0.0	0.0
P. sp.（蚕豆菌）	92.3	46.9	86.3	2.2	87.5	85.7	1.7	1.7
P. aphanidermatum	96.1	93.8	95.4	12.2	87.5	74.2	4.4	6.7
P. monospermum	12.8	0.0	0.0	0.0	18.8	20.0	0.0	0.0
対照区	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.9	0.0	0.0

* 京都大学植物病理学研究室業績　第15号
本研究は文部省科学試験研究費（逸見武雄主班）で行った．記して謝意を表する（赤井）．

P. ultimum, *P. aphanidermatum*, *P. debaryanum*, *P. zingiberum*, *P. hemmianum* の各菌は菜豆, 水稲を除く供試植物に対して強い病原性を示したが, *P. monospermum* 及び *P. vexans* は病原性が全くないか又は非常に弱い.

(2) *Pythium ultimum* に対する植物の種間並に品種間抵抗性差異　前述の結果から, 南瓜は抵抗性で 胡瓜が罹病性であることが明かになったが, 更にウリ類の種間抵抗性及び南瓜, 胡瓜, トマト等の品種間抵抗性の差異について検討した. 接種方法は前法に従い, ウリ科植物に対する接種実験は2回, 他の実験は3回夫々反覆した. 結果は各実験共接種後5日目に測定した.

供試ウリ科植物に対する *P. ultimum* の接種試験結果は第2表の通りである.

第2表　ウリ科植物に対する *P. ultimum* の接種試験

供試植物	供試数	罹病数	罹病率
胡瓜	160本	155本	96.9%
西瓜	90	87	96.7
甜瓜	80	71	88.8
白瓜	70	62	88.6
冬瓜	100	52	52.0
糸瓜	70	33	47.1
南瓜（絣瓜）	110	40	36.4
南瓜（デリシヤス）	120	2	1.7

上表の如く, 胡瓜, 西瓜, 甜瓜及び白瓜は共に強い罹病性を示したが, 南瓜特にデリシヤスは著く抵抗性である. 而して南瓜品種中絣瓜とデリシヤスとの間には抵抗性に可成りの差異が認められるので, 更に南瓜品種間の抵抗性差異を検討した. その結果は第3表に示した.

第3表　南瓜各品種に対する *P. ultimum* の接種試験

品種	供試数	罹病数	罹病率
錦甘露	80本	51本	63.8%
菊座	112	35	31.3
富津	88	32	36.4
Small sugar	72	24	33.3
前田	90	27	30.0
鶴首	48	12	25.0
絣	90	18	20.0
鹿ケ谷	90	18	20.0
甘栗	120	10	8.3

一般に南瓜は他の瓜類に比して抵抗性が強いが, 上表を見ると南瓜の品種間にも可成りの抵抗性の差異が認められる. 特に甘栗は前述のデリシヤスと共に著しく抵抗性であって, 鹿ケ谷, 絣等の品種がそれに次ぎ, 菊座, Small sugar, 富津等は中位, 錦甘露は最も弱い. しかし後述の胡瓜各品種に比べてみれば, 錦甘露でも尚相当強い抵抗性を示すものである.

次に感受性の高い胡瓜の品種間抵抗性の差異を検討したが, 結果は第4表の如くである. 而して, 供試した胡瓜の各品種は例外なく強い罹病性を示したので, 品種間に明瞭な抵抗性の差異を認め得なかった.

第4表　胡瓜各品種に対する *P. ultimum* の接種試験

品種	供試数	罹病数	罹病率
青長中	100本	98本	98.0%
聖護院	75	72	96.0
大和三尺	75	72	96.0
節成	125	118	94.4
落合	75	70	93.3
平守	82	75	91.5
大仙	75	67	89.3
相模	75	64	85.4

筆者等は更に罹病性であるトマト品種に対しても接種試験を行ったが, 結果は第5表の如くである.

第5表　トマト各品種に対する *P. ultimum* の接種試験

品種	供試数	罹病数	罹病率
June pink	60本	51本	85.0%
Pritchard	60	48	80.0
Bony best	60	46	76.7
Early pink	60	45	75.0
Stone	60	45	75.0
Best of world	60	42	70.0
Yellow plam	60	42	70.0
Orheart	60	40	66.7
Ponteroser	60	40	66.7
Breater bartimore	60	37	61.7
New globe	60	36	60.0
Marglobe	60	34	56.7
Delicious	60	30	50.0

上表の結果を見るに, 供試したトマト品種間には抵抗性に大差を認め難く, 明らかに強抵抗性と認められる品種がない. 強いて言えば Delicious, Marglobe は比

較的強く，June pink, Pritchard 等は弱いもののようである．

4. 考　　察

本報告に於いては，京都近郊から分離した数種の *Pythium* 属菌の病原性並に各種植物の供試菌に対する抵抗性の差異について検討した．*Pythium monospermum* は伊藤，德永 (4) に依って，種籾の発芽を阻害することが証明せられているが，DRECHSLER (3) は該菌が甘藍に対して病原性を示さないと述べている．筆者等の接種試験の結果では，本菌はトマト，トロロアオイ，アサガオ及び湿潤な土壤中に於いて胡瓜子苗に明らかな病原性を示し，又水稻の種子の発芽をも阻害する事実を認めている．しかしその侵害力は著しく弱い．同様な結果が *P. vexans* の場合にも認められている．本菌については deBARY (2) 及び BUTLER (1) の記載があるが，病原性には触れていない．*P. ultimum*, *P. debaryanum* 及び *P. aphanidermatum* は多犯性菌として同属菌中最も重視せられているので，病原性に関する研究も亦多い．筆者等の行った接種試験の結果から見ると，南瓜，菜豆及び水稻を除く他の植物に対して強い病原性を示している．而して *P. zingiberum*, *P. hemmianum* 及び立枯をおこした蚕豆子苗から分離した 1 *Pythium* 菌と共に可成りの病原性を示している．斯の如く供試菌の病原性を比較すると，これ等の諸菌は *P. monospermum* 及び *P. vexans* の如く水中或は湿地から採集した菌と被害植物茎から分離した陸生の菌との2型に分けることができる．即ち前者の病原性は弱く，後者の夫は強い．

1方 *Pythium* 菌に対する植物の感受性を見るに，トマト及び胡瓜は罹病性であって，且つその品種間に明かに抵抗性の強いものを認め得なかった．しかるに南瓜品種にあっては，品種間に確然とした抵抗性の差異を認め特にデリシャス，甘栗は最も抵抗性であり，錦甘露は供試した南瓜品種間で最も弱かった．しかし罹病性の胡瓜に比べると尙可成りの抵抗性であることが認められる．而して供試菌に対する感受性から供試植物を分ければ，水稻及び菜豆の如く *Pythium* 菌の侵害を全く受けないものは不感受性であり，南瓜品種に見られる如く，菌の侵入は受けるが倒伏することなく，たゞ侵入部位が褐変するのみの場合にはそれを抵抗性，胡瓜，西瓜及びトマト等は罹病性ということができる．而して南瓜品種中，甘栗，デリシャスを強抵抗性，菊座，富津を抵抗性中位，抵抗性はこれらの2者に劣るが，胡瓜よりも強い錦甘露を弱抵抗性とすることができる．

筆者等は寄主の抵抗性を考察するに当って，上述の如く植物の抵抗性の区分を明かにし，且つ病原菌の病原性の生態学的特性を考究することによって，寄生性の本質を明かにしようと試みている．

5. 摘　　要

1. *Pythium ultimum*, *P. debaryanum*, *P. aphanidermatum* 及び *P.* sp.（蚕豆菌）は種々の植物に対して強い病原性を示したが，*P. monospermum* 及び *P. vexans* の如く水中より分離した菌は極めて弱い病原性を示した．

2. *Pythium* 菌に対する供試植物の感受性には，種及び品種によって差異が認められる．而してトマト，トロロアオイ，アサガオ，胡瓜及び西瓜は罹病性であり，菜豆及び水稻は感染を受けない．又南瓜は抵抗性であった．

3. ウリ科植物の *Pythium ultimum* に対する感受性を見るに，胡瓜，西瓜は罹病性が強く，南瓜（デリシャス）は強い抵抗性を示した．

4. 胡瓜及びトマトの供試菌に対する抵抗性には品種間の差異が明瞭でなく，特に抵抗性の強い品種は見られない．しかし南瓜品種間には明らかに抵抗性の差異が認められた．

5. *Pythium* 属菌に対する供試植物の感受性を分けて，水稻及び菜豆の如きを不感受性，甘栗，デリシャス（南瓜）の如きを強抵抗性，錦甘露（南瓜）の如きものを弱抵抗性，菊座及び富津（南瓜）の如きものを抵抗性中位とし，更に胡瓜及び西瓜を罹病性とした．

引用文献

1) BUTLER, E. J. : An account of the genus *Pythium* and some *Chytridiaceae*. Mem. Dept. Agric. India, Bot. ser., I : 1, 1907.
2) DeBARY, A. : Researches into the nature of the potato fungus. *Phytophthora infestans*. Journ. Bot., 14 : 105, 1896.
3) DRECHSLER, C. : *Pythium* infection of cabbage heads. Phytopath., 15 : 482, 1925.
4) ITO, S. & TOKUNAGA, Y. : Studies on the rot-disease of rice-seedlings caused by *Pythium* species. Journ. Hokkaido Imp. Univ. 32 : 203, 1933.
5) 髙橋　實：植物病理学会報投稿中

Résumé

The present paper dealt with the results of the experiments on the pathogenicity of some Pythia-

-ceous fungi to various plants seedlings and also discussed the resistance of the hosts to the causal fungi. The fungi isolated from wilted crops are as follows : *Pythium debaryanum*, *P. ultimum*, *P. vexans*, *P. aphanidermatum*, *P. monospermum*, *P. hemmianum*, *P. gingiberum*, and an undetermined species causing damping-off of horse beans.

From the results of the inoculation experiments we found that *Pythium ultimum*, *P. debaryanum*, *P. aphanidermatum*, *P. hemmianum*, and *P.* sp. (horse bean fungus strain) had an extremely strong pathogenicity to plant seedlings tested. *Pythium monospermum* and *P. vexans* showed very weak pathogenicity.

Tomato, *Hibiscus manihot*, morning-glory, cucumber and water melon seedlings were most susceptible to the attack of Pythiaceous fungi. Broad beans and rice plants were non-susceptible. The causal fungi can not invade the latter two hosts. On the other hand, some pumpkin and squash varieties have strong resistance, but there is a large range of resistance between them. Among their varieties, Amakuri was most resistant and Nishikikanro was very weak. The degree of this resistance seems to be influenced by environmental factors.

In the inoculation experiments of *Pythium ultimum* to Cucurbitaceae plants, we found that almost all cucumber and water melon varieties tested were highly susceptible to the attack of the causal fungus.

From these results we have classified the host plants tested as follows :

1). the non-susceptible group such as rice plants and broad beans, 2). the strong resistant group, such as Amakuri and Delicious, varieties of pumpkin, 3). the intermediate-resistant group, such as Kikuza and Tomizu, varieties of pumpkin, 4). the weak-resistant group, such as Nishikikanro, a variety of pumpkin, and 5). the highly susceptible group, such as cucumber and water melons.

稲胡麻葉枯病に関する研究 IV

稲胡麻葉枯病菌に対するフエニール醋酸水銀の影響に就いて*

上 山 昭 則

UEYAMA, Akinori : Untersuchungen über die "Gomahagare"-Krankheit der Reispflanze. IV. Ueber den Einfluss des Phenylquecksilberazetats auf *Cochliobolus* (*Ophiobolus*) *miyabeanus*.

緒　言

種々の化学的或は物理的要因によつて惹き起される糸状菌の発育阻害現象はきわめて複雑な機作のもとに生起するものであつて，その機作の解明にはあらゆる方面，特に酵素化学的，蛋白化学的方面からの解析的研究もなされなければならない．このような解析的研究に先立つて，或はそれと平行して，発育阻害現象を全く現象論的な立場から概観的に認識することも極めて重要なことと思われる．

筆者は昭和24年（1949）より同25年（1950）に亘つてフエニール醋酸水銀（C_6H_5-Hg-O-C(=O)-CH₃ の構造式）を使用して，稲胡麻葉枯病菌に対する影響を観察した．供試薬剤は桑田（真谷）博士の合成せられたもので，氏の御好意により分譲を得たものであつて，その融点は 148～149 °C. である． 尚供試胡麻葉枯病菌（*Cochliobolus miyabeanus*）は 13 号菌である．

本稿を草するに当り御指導を賜つた赤井教授，フエニール醋酸水銀を分譲下され，且つ有益な御助言を賜つた三共株式会社野洲川工場桑田五郎博士及び種々の点で援助下された研究室員各位に感謝の意を表する．

1. フエニール醋酸水銀による供試菌々糸の発育阻害

植物病原菌に対する薬剤の影響に関する研究は主として胞子発芽に対する阻害作用或は培養基に添加した場合の生長量からその効果を判定しているが，一般に菌類は一定容量の培地上では，その生長曲線は誘導期，対数期，定常期を有する Sigmoid 型の発育経過を辿るもののようである． 田宮等(7) は細菌の薬物による発育阻害型式を3種の類型に分け，昇汞を I—C 型（誘導期延長型中の殺菌亜型）に入れている．

* 京都大学植物病理学研究室業績，No. (n. s.) 27. 本研究の1部は文部省科学研究費を以つて行つた．記して謝意を表する（赤井）.

(a). 菌糸発育の誘導期とフエニール醋酸水銀の作用

一般にこの種の実験を行う場合，液体培養により供試菌の乾燥重量を測定比較するのが妥当である．併し，フエニール醋酸水銀添加液体培養では，2.5×10^{-5}% に於ても尚供試菌の発育を許さないので，それより薄い濃度区を多く作ることは誤差を多くする恐れが多い．従つて筆者は固体培養基を使用した．本法では正確な薬剤の濃度を得ることが困難であるが，薬剤による発育阻害の大体の傾向は認めることができよう．先ず常法の如く 1% 蔗糖加用馬鈴薯煎汁寒天（pH 6.0）をつくり，それに所要濃度になるようにフエニール醋酸水銀を添加して殺菌後**，ペトリ皿に分注した．これ等には予め 28°C. で2週間培養した菌叢の1片を植付け，28 °C. の定温器に保つた．而して供試菌生長量測定には互に直角の2方向に菌叢の直径（2 r）を求め，夫より面積の対数（log πr^2）を求めて比較した（第1表）.

第1表　フエニール醋酸水銀の濃度と供試菌々糸発育との関係，3回実験結果平均

フエニール醋酸水銀濃度%	培養日数（日） 3		6		9	
	r[1]	log πr^2	r[1]	log πr^2	r[1]	log πr^2
10^{-3}	0	0	0	0	0	0
4×10^{-4}	0	0	2.1	1.16	2.5	1.29
2×10^{-4}	2.0	1.09	4.3	1.76	7.1	2.20
1.33×10^{-4}	2.9	1.42	8.7	2.38	14.2	2.80
10^{-4}	4.2	1.75	11.5	2.61	17.0	2.95
6.66×10^{-5}	6.6	2.14	13.0	2.72	19.8	3.09
5×10^{-5}	8.1	2.31	16.8	2.94	30.2	3.45
2.5×10^{-5}	9.6	2.46	20.6	3.12	34.1	3.56
1.25×10^{-5}	10.2	2.51	24.5	3.27	38.7	3.67
(標準区) 0	12.3	2.67	26.6	3.34	41.0	3.72

[1] r：菌叢半径 mm. Inculum の半径，約 1mm.

** フエニール醋酸水銀は殺菌の際，1.5 Atm. 迄は分解しないもののようであるが，尚安全を期するため1.0 又は 1.2 気圧下で殺菌した．

以上の結果では，フエニール醋酸水銀は供試菌の菌糸発育誘導期を延長せしめ，発育阻害をおこしている．

(b)．菌糸発育の対数期とフエニール醋酸水銀．(a)の実験によつてフエニール醋酸水銀は誘導期延長による発育阻害作用を呈することがわかつたが，対数期の発育阻害を確めるため次の実験を行つた．フエニール醋酸水銀を含まない1%蔗糖加用馬鈴薯寒天の平面に供試菌を植えつけ，28°C.に正確に72時間培養してその発育面積を求めた．次に予め調製して置いたフエニール醋酸水銀溶液を20ml.宛菌叢面に注入して，充分液に浸潤せしめ，28°C.下に2時間保つた後殺菌蒸溜水で3回洗滌した．これ等の培養は2区に分け，1はそのまま，他はその菌叢辺縁部から白金線で菌叢片を切りとり，フエニール醋酸水銀を含まない新しい平面培養基上に移植して，共に28°C.下に60時間保つた（第2表）．

以上の結果，薬剤接触後培養を継続したものに於てはフエニール醋酸水銀の濃度により発育量に多少の差を生じたが，移植したものに於てはフエニール醋酸水銀の濃度に基く差を殆んど現わしていない．併し，高濃度に於てはごく僅かの後作用が認められるようである．柳田(7)によれば，細菌の発育対数期に昇汞を添加した場合には発育は一時停止し，この間に生菌数は1時減少するが，その後 Control と同じ速度で発育することを報じている．上表の実験結果のみからは，フエニール醋酸水銀の供試菌々糸発育対数期への影響を充分論ずる事は尚困難と思うが，継続培養の場合の発育差に対しては僅かに残存した Hg の影響をも考慮せねばならないであろう．

2. 培養基中の蔗糖量並にフエニール醋酸水銀濃度と稲胡麻葉枯病菌菌糸の発育との関係

一般に薬剤の効力は作用時間，温度，pH，有機物の存在など種々の環境要素の影響をうけるものである．斯かる点に関し，筆者は培養基中の蔗糖量がフエニール醋酸水銀の胡麻葉枯病菌々糸発育阻害作用に如何に影響するかを知るため次の実験を行つた．Richards 寒天培養基の蔗糖量を夫々 0.5，2.5，5% として，その各々に

第2表　フエニール醋酸水銀を発育対数期に作用せしめた場合の稲胡麻葉枯病菌々糸の発育．2回実験結果平均．

フエニール醋酸水銀濃度 %	接触前 (A) r	接触前 (A) log r²	接触後 (B) r	接触後 (B) log πr²	(B)—(A) r	(B)—(A) log πr²	接触後移植 (C) r	接触後移植 (C) log πr²
10^{-3}	20	3.10	21	3.14	1	0.03	13	2.69
4×10^{-4}	21	3.12	23	3.20	2	0.07	16	2.88
2×10^{-4}	21	3.12	23	3.20	2	0.08	15	2.84
10^{-4}	20	3.10	25	3.27	4	0.16	16	2.87
5×10^{-5}	20	3.09	27	3.34	7	0.24	15	2.84
0 （標準区）	21	3.12	38	3.66	18	0.54	17	2.95

r：菌叢の半径　mm.

第3表　培養基中の蔗糖量並にフエニール醋酸水銀濃度と菌糸発育

培養日数	蔗糖量 %	0 r	0 R	5×10^{-5} r	5×10^{-5} R	10^{-4} r	10^{-4} R	1.33×10^{-4} r	1.33×10^{-4} R	2×10^{-4} r	2×10^{-4} R	4×10^{-4} r	4×10^{-4} R	10^{-3} r	10^{-3} R
		フエニール醋酸水銀濃度 %													
3	0.5	8	2.27	4	1.55	2	0.97	0	0	0	0	0	0	0	0
	2.5	12	2.62	5	1.84	3	1.25	0	0	0	0	0	0	0	0
	5.0	12	2.64	3	1.43	3	1.30	0	0	0	0	0	0	0	0
6	0.5	21	3.08	9	2.28	4	1.45	0	0	0	0	0	0	0	0
	2.5	26	3.22	12	2.54	6	2.01	4	1.72	4	1.61	0	0	0	0
	5.0	27	3.27	8	2.27	6	1.97	4	1.58	3	1.39	0	0	0	0
9	0.5	34	3.36	13	2.31	5	1.61	0	0	0	0	0	0	0	0
	2.5	36	3.31	20	2.89	10	2.28	6	1.72	5	1.68	0	0	0	0
	5.0	41	3.47	15	2.67	14	2.72	5	1.64	5	1.68	3	1.29	0	0

r：菌叢の半径 mm.，　R：各3日間に発育した菌叢面積の対数．2回実験結果平均

フエニール醋酸水銀を加えて1気圧下で殺菌後，ペトリ皿に分注して，その中央に菌叢の1片を植付けた．結果は第3表の如くである．

供試菌々糸の発育は，本実験の範囲内に於て，大体蔗糖量に比例する傾向が認められるが，この結果は平山(4)がイモチ病菌に就いて行つた実験結果と同一傾向という事ができる．而して蔗糖を多用した場合には糖量が少い場合よりも，フエニール醋酸水銀を添加しても発育量が稍々優るようであるから，糖含量はフエニール醋酸水銀の毒作用に影響するもののようである．

3. フエニール醋酸水銀の濃度と供試菌分生胞子発芽との関係

薬剤による疾病防除に於ては経済的面から可及的に低い濃度に於て殺菌効果をあげ得ることが望ましい．斯かる観点から筆者はフエニール醋酸水銀の胡麻葉枯病菌分生胞子発芽に対する最低阻止濃度を求めることにした．供試胞子は1% 蔗糖加用馬鈴薯煎汁寒天上に 28 °C. 13〜18日間試験管培養して得られたものである．先ず清浄なスライドグラス上にフエニール醋酸水銀液の1滴をおき夫々培養基上の胞子を懸濁して，肉池を利用して28°C.下で4時間発芽せしめた．尚標準区ではフエニール醋酸水銀液の代りに蒸溜水に懸濁せしめた．結果は第4表の通りであつて，その発芽限界濃度は約 2×10^{-4}% 附近にある．

第4表　フエニール醋酸水銀液中での稲胡麻葉枯病菌分生胞子発芽試験　3回実験結果平均

フエニール醋酸水銀濃度 %	Hg mg/l	測定胞子数	発芽胞子数	発芽率 %
0 （標準区）	0	2353	2317	98.4
1.25×10^{-5}*	0.074	1713	1666	97.2
2.5×10^{-5}	0.149	1797	812	45.2
5.0×10^{-5}	0.299	2482	959	37.2
10^{-4}*	0.598	2226	18	0.8
2.0×10^{-4}*	1.191	1503	1	0.1

*2回実験結果

併し，この方法による発芽試験では，フエニール醋酸水銀濃度の変化を来すおそれもあり，又胞子が充分に濡れず，且つ胞子の濃度が一定しない等の不便があるので筆者は更に宮原(6) に従つて発芽試験を行つた．供試菌の試験管斜面培養に殺菌蒸溜水を注入し，絵筆で攪拌して胞子を懸濁させ，ガーゼで濾過した．次いでその5ml.宛を遠心分離用沈澱管に分注して，2500回転，2分間遠心分離してその上澄液を流し，フエニール醋酸水銀液5ml.を注入（標準区には蒸溜水，pH 6.0 を注入）攪拌して，コルク栓を施し 28°C.の定温器に保つた．2時間後それらを再び遠心分離して（2500回転，1分），フエニール醋酸水銀を流し，蒸溜水による洗滌と遠心分離とを交互に3回行つた後，肉池を利用して蒸溜水による点滴発芽試験を行つた．結果は第5表の通りであるが，第4表の場合よりも遙かに薄い 5×10^{-5}% に於て既に発芽が阻止せられる．

第5表　フエニール醋酸水銀に接触せしめた稲胡麻葉枯病菌分生胞子の発芽試験　4回実験結果平均

フエニール醋酸水銀濃度 %	Hg mg/l	測定胞子数	発芽胞子数	発芽率（%）	補正不*発芽率
0 （標準区）	0	3 033	2 923	96.3	0
1.25×10^{-5}	0.074	2 776	2 476	89.1	7.4
2.5×10^{-5}	0.149	2 809	476	16.9	82.4
3.3×10^{-5}	0.199	2 841	115	4.0	95.8
5.0×10^{-5}	0.299	2 861	0	0	100
10^{-4}	0.598	3 170	0	0	100
2.0×10^{-4}	1.191	2 891	0	0	100

$$*\text{補正不発芽率}=\frac{\text{標準区の発芽率}-\text{試験区の発芽率}}{\text{標準区の発芽率}}\times100$$

第5表の結果からフエニール醋酸水銀の胞子発芽阻止力及び最低発芽阻止濃度を明かにするため，Bliss(2)に準じてその近似値を算出した．第5表から Probit(y)とフエニール醋酸水銀濃度(x)（1.25×10^{-5}% を便宜上1とする）との間には

$$y=1.72+2.08x$$

の実験式が成立するから，L. D.$_{50}$（胞子発芽率を 50%にする濃度）は 1.96×10^{-5}%（0.1159 mg Hg/l），L. D.$_{99}$ は 4.11×10^{-5}%（0.2425 mg Hg/l）である．即ち 1% 蔗糖加馬鈴薯寒天上に 28° C.，13〜18日間培養して形成せられた供試菌分生胞子の最低発芽阻止濃度は約 4.11×10^{-5}% 附近であり，中央発芽阻止濃度は 1.96×10^{-5}% である．

4. 異る濃度のフエニール醋酸水銀液を添加した培養基上の稲胡麻葉枯病菌分生胞子とその寄主体侵害力の変化

先に筆者の研究室に於ては稲熱病菌並に胡麻葉枯病菌の発育条件と寄主侵害力との関係を研究したが，供試菌の窒素栄養と侵害力，加里栄養を異にした水稲上の分生胞子の寄主侵害力の変化等に就いては既に発表せられている(3)．筆者はフエニール醋酸水銀の添加量を異にした培養基上に形成せられた胡麻葉枯病菌分生胞子に就いて，その寄主侵害力の変化を調べた．

(a). 噴霧接種試験　1% 蔗糖加馬鈴薯煎汁寒天にフェニール醋酸水銀を添加し，それを1度 Koch 蒸気殺菌器で滅菌後，試験管に分注した．それを再び高圧殺菌(1.0 気圧)して，供試菌の菌糸を植付け 28°C. の定温器に保つた．15～17日間培養後，形成せられた分生胞子を各区共同一濃度の懸濁液に作り，7月21日，草丈50～55cm. の稲苗(品種曲玉)に噴霧接種した．而してこれ等の苗は5月20日播種，5月19日容量 2 l の pot に 20 本宛移植して，同一条件下に生育せしめたものである．接種後 28°C. の接種箱に24時間保つたが，取り出して3日後に病斑数を調査した(第6表).

第6表　フェニール醋酸水銀を添加した培養基上の稲胡麻葉枯病菌分生胞子接種試験結果 2回実験結果．

培養中のフェニール醋酸水銀の濃度 %	供試苗数	1個体当り葉長平均 cm.	葉長 100 cm. 当り病斑数
0 (標準区)	80	93.7	23.7
5×10^{-5}	80	85.0	36.3
10^{-4}	80	87.2	29.9
2×10^{-4}	80	86.9	15.0

上表の結果には明かに有意差が認められ(平均値の Student test(6))，高濃度に添加した場合には標準区に比して病原性は低下し，低濃度の場合には寧ろ高い結果を示している．

(b) 胞子の形態　培養基中のフェニール醋酸水銀は生じた供試菌胞子の形状，色調等にも影響を及ぼすもののようであつて，NaCl を添加した場合にも胡麻枯病菌胞子の形状に変化を生ずる事は最近報ぜられている(1).

第7表　フェニール醋酸水銀を含む1% 蔗糖加用馬鈴薯煎汁寒天上の胡麻葉枯病菌分生胞子の大さ*

フェニール醋酸水銀濃度 %	長径平均値 μ	隔膜数 (個)
標準区 0	93.0±13.8	8.34±0.38
5×10^{-5}	99.5±13.1	9.30±0.48
10^{-4}	93.9± 3.7	9.16±1.10
2×10^{-4}	72.1±18.7	6.82±1.80
2×10^{-4}移植区**	88.3±11.5	7.18±0.95

* 50個に就いて測定．
** 普通培養基に移植後測定．

上表の如く，2×10^{-4} % 区の胞子は形状も小さく，その内部構造も不完全なものが多い．而して 10^{-4} 及び 5×10^{-5} % 区では，胞子はやや標準区の夫よりも大きい．尚 2×10^{-4} % 区から移植した場合には不完全なものが多い．

筆者は更に各濃度区の胞子の発芽試験を行つた．供試胞子は 28°C. に 20日間培養したものであつて，28°C. 下に於て点滴法で発芽せしめた．

第8表　フェニール醋酸水銀を添加した馬鈴薯煎汁寒天上の胞子の発芽試験 2回実験結果平均

発芽時間	フェニール醋酸水銀の濃度 %	測定胞子数	発芽胞子数	発芽率 %	発芽管長* μ
3 時間	標準区	2294	1829	80.7	82.7± 8.0
	5×10^{-5}	1447	1188	82.0	94.9± 8.8
	10^{-4}	1294	1214	93.7	87.4± 9.6
	2×10^{-4}	1349	1154	85.5	87.7±11.5
	2×10^{-4} 移植区	1856	1536	82.7	58.0±14.1
6 時間	標準区	1877	1841	98.0	——
	5×10^{-5}	1184	1155	98.1	——
	10^{-4}	977	948	97.2	——
	2×10^{-4}	1671	1627	97.3	——

* 50個平均

上表の結果では，これ等の胞子の発芽率及び発芽管長には殆んど差異を認め得ないから，この結果からこれ等胞子の寄主侵害力の差を説明する事はできない．尚 2×10^{-4} 移植区の胞子の発芽管の伸長が悪い点は更に考察を要する．

摘　　要

1. フェニール醋酸水銀の菌糸発育阻害型式は誘導期延長によるものであつて，対数期には効果が少いもののようである．

2. Richards 寒天培養基の蔗糖量 5% 迄の実験では，蔗糖量の増加はフェニール醋酸水銀による菌糸発育の誘導期延長をさまたげる．

3. 供試菌胞子を 28°C. に於て2時間フェニール醋酸水銀に作用せしめ，その後4時間発芽せしめた結果では最低発芽阻止濃度は 4.11×10^{-5} % (0.242 mg Hg/l) であり，中央発芽阻止濃度は 1.96×10^{-5} % (0.115 mg Hg/l) である．

4. フェニール醋酸水銀を添加した培養基上の供試菌は，低濃度添加 (5×10^{-5} %) の場合は標準区に比し胞子の大さも大きく，寄主侵害力も強いが，高濃度 (2×10^{-4} %) の場合には胞子の形も小さく侵害力も弱い．

引用文献

1. 赤井重恭・近藤　章：日本植病会報，17 (2) : 73—

77, 1953.
2. BLISS, C. I. : Ann. Appl. Biol. 22 : 134–167. 1935.
2. 逸見武雄：農学, 1(6)：1-7, 1947.
4. 平山重勝：植物病害研究 I：84—89, 1931.
5. 宮原泰幸：滿鉄中央試験所彙報 II(3), 1944.
6. 佐藤謙助：平均値と百分率の正しい取扱い方, 38—42, 1947.
7. 柳田友道：酵素化学の進歩 I：285—326. 1949.

ZUSAMMENFASSUNG

In vorliegender Arbeit habe ich den Einfluss des Phenylquecksilberazetats ($C_6H_5HgOCOCH_3$) auf *Cochliobolus miyabeanus* untersucht. Das Phenylquecksilberazetat wurde durch die Güte von Dr. SHINTANI in der Universität zu Kyoto synthetisch erhalten.

(1) Auf Grund der Versuchsresultate ist es wahrscheinlich, dass der hemmende Einfluss von Phenylquecksilberazetat nicht auf Verlangsamung der logalithmische Periode sondern auf Verlängerung der Induktionsperiode des Myzelwachstums, zurückzuführen ist.

Im Rahmen des untersuchten Zuckergehalts der Nährmedien (0.5—5.0 % in Richardsschem Agarboden) steht das Myzelwachstum von *Cochliobolus miyabeanus* im engen Zusammenhang mit dem Zuckergehalt, der auch auf die toxische Wirkung von Phenylquecksilberazetat beeinflusst.

Je mehr Zucker im Boden enthalten ist, desto minder wird die toxische Wirkung von Phenylquecksilberazetat.

(2) Die minimale Konzentration von Phenylquecksilberazetat für die Keimungshemmung der Konidien von *Cochliobolus miyabeanus*, die auf 1% Zucker-Kartoffelagarboden gebildet wurden, mit Phenylquecksilberazetat-Lösungen von verschiedener Konzentrationen 2 Stunde lang bei 28°C behandelt, und zentrifugiert wurden, ist ca. 4.11×10^{-5} % (0,242 mg Hg/l). Die Beobachtungen wurden nach 4 Stunden bei 28 °C. gemacht. Die mittlere tödliche Dosis von Phenylquecksilberazetat liegt ca. 1.96×10^{-5} % (0.115 mg Hg/l).

Das Myzelwachstum von *Cochliobolus miyabeanus* lässt sich in 2.5% Glukose-Richardsschen Lösungen mit Zusatz von Phenylquecksiberazetat nicht bis zum 2.5×10^{-5} % (0.14 mg Hg/1) beobachten.

(3) Die Virulenz der Konidien, die auf Kartoffelagarböden mit verschiedener Konzentration von Phenylquecksilberazetat gebildet wurden, steht in folgender Reihe :

$5 \times 10^{-5}\% > 10^{-4}\% >$ Kontrolle $> 2 \times 10^{-4}\%$

während die Reihe der Dimension der Konidien ist :

$5 \times 10^{-5}\%,\ 10^{-4}\% >$ Kontrolle $> 2 \times 10^{-4}\%$

Wenn man das auf dem Boden mit $2 \times 10^{-4}\%$ von Phenylquecksilberazetat herausgewachsene Konidien in dem Phenylquecksilberazetat freien Boden impft, so hat es die Tendenz, die Konidien von normaler Grösse zu bilden.

Fusarium cepae に及ぼす Sulfamine 剤の影響 *

河　野　又　四**

KONO, Matashi: Effect of some sulfanilamide compounds upon *Fusarium cepae.*

1. 緒　　言

人類を攻撃する病原細菌に対する sulfamine 剤の偉効については今更論ずる迄もないが，本剤の植物病原菌に対する実験は尚極めて少ない．最近 Mitchell(8), Hassebrauk(3) 等は禾穀類銹病に対する本剤の応用を実験しているが，本剤を麦に撒布又は土壌から吸収せしめた場合には，銹病の発生を防止する．併し夫等の麦に p-aminobenzoic acid を与えると，両薬剤が拮抗的に作用して防除効果を失い，標準区と同様に発病する．

筆者は昭和25年(1950)以来，京都中央市場に於ける青果類の病害調査を行つているが，青果類はその貯蔵，輸送中に腐敗するものが頗る多い．これらの青果病害の防除対策の一つとして，人体に無害な薬剤の出現が望ましいが，筆者はこのような見地から，sulfamine 剤を選んで，植物病原菌に対する効果を検することとした．供試菌には淡路島産の玉葱から分離した *Fusarium cepae* を用い，sulfamine 剤は次の4種を使用した．

1. sulfamine (SA), $\overset{(4)}{NH_2}-C_6H_4-SO_2-\overset{(1)}{NH_2}$
   分子量　172,　温水に易溶．
2. sodium acetosulfamine (AS),
   $NH_2=C_6H_4-SO_2-NHCOCH_3$ (ONa)
   分子量　236.2,　水に易溶．
3. sulzol-s (SS),
   $CH_2OH(CHOH)_4CH(SO_3Na)-NH-C_6H_4-SO_2-NH-$(thiazol ring: N, S)
   (aminophenylsufamine thiazol—N-dextrose Na—sulfamate),
   分子量　522.3,　液状．
4. homosulfamine (HS),
   $NH_2-CH_2-C_6H_4-SO_2-NH_2HCl\ 2/3\ H_2O$,
   分子量　244.7,　水に易溶．

本稿を草するに当り，薬剤の入手，処理に就いて種々御援助下された京大医学部薬学教室宇野助教授に深謝の意を表する．

2. 実験結果及び考察

1. *Fusarium cepae* の分生胞子発芽に及ぼす sulfamine 剤の影響．糸状菌に対する sulfanilamide の影響に就いては，*Aspergillus*, *Mucor*, *Penicllium* 等を用いての実験があるが (1, 10, 14)，植物病原菌を用いての実験は少い．筆者はまず *Fusarium cepae* 分生胞子の発芽に対する sulfamine 剤の影響をみることにした．馬鈴薯煎汁寒天上に 10～13 日間培養した供試菌胞子を用い，小硝子管瓶に液の深度が 0.5 cm. になるように溶液を入れ，それに上記胞子の蒸溜水懸濁液1滴を pipette で滴下して 28°C. 下に5時間発芽せしめた．

第1表の結果では，供試薬剤は余り供試菌の分生胞子発芽を抑制しない．ただ acetosulfamine が濃度 2.5×10^{-3} mol 以上に於て約 50% の発芽並に発芽管長の抑制を示した．一般に sulfamine 剤をもつて細菌を処理した場合，2—7 時間以上を経過しないとその作用があらわれないといわれている(6)．桃田(16) は sulfamine の細菌発育阻害様式は対数期抑制型であると称している．従つて供試菌の場合，5時間以上の比較的長い時間の処理によつて抑制作用があらわれることも考えられるので，本菌々糸の発育との関係を見ることとした．

2. *Fusarium cepae* の発育に及ぼす sulfamine 剤の影響．Richards 液に供試薬剤を所定濃度に添加して供試菌を植付け，28°C. 下で培養した．これらの培養は一定期間ごとに取り出して，乾燥重量を測定したが，結果は第2表以下の通りである．

第2表の結果を見るに，菌糸発育に対する sulfamine 及び acetosulfamine の関係は発芽試験の場合と全く反対の傾向を示し，濃度の如何に拘らず，後者の作用力が弱い．而して homosulfamine は発芽の場合と同様，全く発育抑制の力がなく，4×10^{-2} mol を添加しても尚

---

* 京都大学植物病理学研究室業績，No. 28.

** 西京大学農学部

本研究の1部は文部省科学研究費（綜合）を以つて行つた．謝意を表する．（赤井）

第 1 表　発芽率及び発芽管長に及ぼす sulfamine 剤の影響 （2 回実験結果平均）

供試薬剤		分生胞子発芽率 %				発芽管長 μ			
		* 0	6.25×10^{-4}	2.5×10^{-3}	10^{-2}	* 0	6.25×10^{-4}	2.5×10^{-3}	10^{-2}
SA	測定値	86.4	80.6	77.5	74.4	37.7	40.2	35.7	28.9
	比数	100	93	89	85	100	106	94	76
AS	測定値	85.8	62.0	43.9	53.5	41.0	24.2	20.7	15.3
	比数	100	72	50	62	100	58	49	36
HS	測定値	89.0	85.2	80.0	69.6	34.5	27.4	24.3	23.8
	比数	100	94	89	78	100	79	75	68

＊薬剤濃度（mol）　各区測定胞子数，1500.

第 2 表　培養15日後に於ける *Fusarium cepae* の発育に及ぼす sulfamine 剤の影響 （3 回実験結果平均）

供試薬剤	菌叢乾燥重量 mg.							
	薬剤濃度 mol							
	0	6.25×10^{-4}	1.25×10^{-3}	2.5×10^{-3}	5×10^{-3}	10^{-2}	2×10^{-2}	4×10^{-2}
SA	957.8	580.6	490.0	247.9	39.9	23.6	0	0
AS	957.8	821.8	774.0	480.8	311.3	65.4	0	0
SS *	957.8	928.5	845.8	25.6	7.8	0	0	0
HS *	957.8	967.4	950.7	933.5	925.6	939.7	924.2	927.2

＊2 回実験結果平均

標準区の 97% の発育を許している．然るに sulzol-s は供試 sulfamine 剤中最も強力なもののようで，10^{-2} mol で既に発育を許さない．併し低濃度に於ては寧ろ sulfamine 又は acetosulfamine に劣るようである．

これら sulfamine 剤の濃度と発育との関係を，homosulfamine を除いて，Bliss の方法(5, 11) により probit を算出して得た直線方程式から発育抑制率 50% (MLD) 及び同 95% (LD 95) を求めると第 3 表の通りである．

第 3 表　*Fusarium cepae* の菌糸発育抑制濃度

供試薬剤	50%抑制(MLD)	95%抑制(LD95)
sulfamine	1.04×10^{-3}	7.89×10^{-3}
acetosulfamine	3.49×10^{-3}	8.50×10^{-3}
sulzol-s	1.64×10^{-3}	2.98×10^{-3}

尚 sulfamine 剤添加 medium 上の供試菌発育と経過培養日数との関係をみると次表の通りである．

第 4 表　*Fusarium cepae* の発育に及ぼす sulfamine 剤の影響と培養日数

供試薬剤	濃度 mol	菌叢乾燥重量 mg. 培養日数（日）					15日培養菌体重比
		3	6	9	12	15	
	0	48.4	588.4	768.7	836.6	957.[illegible]	100
sulfamine	10^{-2}	7.4	8.6	10.9	16.6	23.6	2
	2.5×10^{-3}	16.8	19.1	20.0	134.0	247.9	26
	6.25×10^{-4}	22.6	109.5	196.5	394.5	580.6	61
acetosulfamine	10^{-2}	9.2	25.1	36.6	56.1	65.4	7
	2.5×10^{-3}	19.3	38.9	106.2	261.4	480.8	50
	6.25×10^{-4}	23.7	251.7	514.9	619.7	821.8	86
sulzol-s	10^{-2}	0	0	0	0	0	0
	2.5×10^{-3}	0	0	2.7	9.9	25.6	4
	6.25×10^{-4}	2.1	48.4	568.6	689.3	928.5	97
homosulfamine	10^{-2}	9.9	333.8	740.8	866.1	939.7	98
	2.5×10^{-3}	33.2	386.0	794.4	876.7	933.5	97
	6.25×10^{-4}	47.2	523.8	815.2	888.1	967.4	101

上表に於て明かな如く，SS は 10^{-2} mol の濃度では培養 15 日間を通じて，全く発育を許さない．併し低濃度に於ては，その発育初期には sulfamine 並に acetosulfamine より強い抑制力を示したが培養期間の経過と共に発育を恢復して，15 日後に於ては sulfamine, acetosulfamine よりも寧ろ優れた発育を示している．併し homosulfamine 区に於ては 10^{-2} mol を添加しても，供試菌の発育はその初期に於いて僅かに抑制せられるのみであつて，低濃度に於ては殆んど抑制が認められない．

田宮等(16) は『類似化学構造を有する薬物は同一菌種に対して同一型式で作用する』と称して，化学構造と抗菌作用との関係を述べているが，鶴岡(13) も亦 sulfamine 剤の細菌に対する抗菌作用について，細菌の発育抑制が sulfamine 剤の化学構造によつて異ることを強調している．即ち，原型の sulfamine に比較して，N^1 の位置に脂肪族基（例 acetosulfamine）又は芳香族基を結合したものは，その作用が sulfamine と大差がない．併し N^1 に異項環基を結合したもの（例 sulzol-s）では著しくその作用を増強した．而して N^4 と Benzene 核との間に脂肪族基を結合したもの（例 homosulfamine）では著しい作用力の減弱があつた．尚抑制作用の大きな物質程菌体への吸着が増加することを認めている．併し石館・岡野(4) 等は，sulfamine 剤の抗菌作用は特定の化学構造にその特異性を局限することは極めて困難な場合があるとし，sulfamine 剤を構成する分子の構成原子乃至電子の空間的配列が関係すると述べている．即ち homosuflamine は N^4 の H と Benzene 核との間に $-CH_2$ を結合することにより，その空間的配列が特異性を示し，菌体酵素蛋白質の水素受容体との親和力（結合力）を減少するものと考えている．而して sulzol-s の如き sulfamine の N－ 誘導体に於て菌発育抑制作用の増大が認められるのは，これら置換の電子吸引力の影響が $-SO_2$ 基の活性（イオン化或は水素結合能）に寄与することによると考えている．

本実験に於ては，用いた sulfamine 剤が夫々特異性をもつて *Fusarium cepae* の菌体に作用したことが認められるが，種々の点から鶴岡(13) 等が述べた細菌に就いての実験結果と一致する．その発育阻害型式は対数期及び定常期を抑制の型式であらわれ，対数期抑制は特に高濃度に於て著しい．而して液体培養に於て sulfamine が acetosulfamine より強力な抑制作用を示したのに拘らず，発芽試験に於ては反対に acetosulfamine が優れた抑制を示したことは両者の菌体との結合型式，緩慢の差に基因するものであろう．従つて糸状菌に対する薬剤の阻害作用を検する場合には，特にその処理時間（又は培養期間）に留意する必要がある．DIMOND 及び THOMPSON (14) は sulfamine 剤の作用について，菌の生長初期に抑制しても，それは絶対的抑制ではないと述べている．

3. p-aminobenzoic acid*（PABA）の拮抗作用

RUBBO 及び GILLESPIE (9) は *p*-aminobenzoic acid が *Clostr dium ace:obutylicum* の growth factor であることを発見したが，ROBBINS 及び MA (8) は *Rhodotorula aurantica* が p-aminobenzoic acid を欠いていることを報じている．氏等によると，この酵母は 0.03 μg/l の p-aminobenzoic acid によつても発育を促進せしめられ，3 μg/l を加えた場合には発育の最大量に達する．WOODS (15) は低濃度の p-aminobenzoic acid が sulfanilamide の抑制をおさえることを報じたが，夫は化学構造式が類似している結果，菌体酵素蛋白（或は水素受容体）とその吸着の場を競うことによりおこるものと考えられている(4, 7, 9, 15)．更に DIMOND(14) は *Trichophyton purpureum* に就いて，sulfamine に対する p-aminobenzoic acid の拮抗作用を，又 HARTELIUS(1), HARTELIUS 及び ROHOLT (2) 等も *Aspergillus* その他に就いて同様の拮抗作用を報じている．HASSEBRAUK(3) も亦麦類の銹病に於いて sulfamine 剤と p-aminobenzoic acid との拮抗作用を報じた．即ち麦苗に sulfamine と p-aminobenzoic acid を共に与えた場合には，sulfamine の発病抑止作用は失われて標準区と同様に発病する．筆者は供試の *Fusarium* 菌に就いて，この種の実験を行つた．

第5表 *Fusarium* cepae の発育に對する sulfamine 剤の影響と p-aminobenzoic acid と sulfamine との拮抗作用

供試 sulfamine 剤	p-aminobenzoic acid	pH 初期	pH 末期	* 乾燥菌体重量 gr.	乾燥菌体重量比
標準区	0	5.4	8.6	0.9578	100
	2 mg %	5.1	8.4	0.9659	100.8
sulfamine 10^{-2}mol	0	5.4	5.4	0.0236	2.4
	2 mg %	5.4	8.0	0.6455	67.3
acets-sulfamine 10^{-2}mol	0	5.5	6.1	0.0654	6.8
	2 mg %	5.6	8.2	0.9001	93.6
sulzol-s 10^{-2}mol	0	4.6	4.6	0	0
	2 mg %	4.4	4.7	0.0242	2.5
homo-sulfamine 10^{-2}mol	0	5.3	8.6	0.9394	98.0
	2 mg %	5.3	8.6	1.0369	108.2

* 28°C.，15 日間培養の結果．

* 京大農学部生物化学教室の好意により分譲をうけた謝意を表する．

上表の如く，sulfamine, acetosulfamine の添加による本菌の発育抑制は p-aminobenzoic acid によつて明かな拮抗作用をうけ，発育を恢復したが，sulzol-s による抑制は拮抗作用をうけず，発育を殆んど恢復しなかつた．而して標準区及び homosulfamine 区に p-aminobenzoic acid を添加した場合には，供試菌の発育には影響がない．

4. *Fusarium cepae* の呼吸に及ぼす sulfamine の影響．TATUM 及び GIESE (12) によれば，*Neurospora crassa* は sulfamine によつて呼吸率に影響をうけないというが，又菌の酸素消費量を減少せしめたという報告もある．併し一般に微生物の呼吸に及ぼす sulfamine 剤の影響は尚明瞭でないようである．筆者は sulfamine の *Fusarium cepae* の呼吸に及ぼす影響を Warburg 検圧計を用いて酸素消費量測定により測定した．

検圧計容器に Richards 液を 5 cc. 宛分注して，夫々胞子液 2 白金耳を移して，28 °C. に 3 日間保つた．その後無処理の菌体呼吸量を測定し，しかる後 sulfamine 0.1 mol 原液を 10^{-2} mol になるように加え，15分間後呼吸量を測定した．30 分後に於ける測定結果から，Q_{O_2} を計算比較すると，処理前 7.30，処理後 6.80 となり，殆んど影響をうけないようである．

3. 摘　　要

1. 玉葱から分離した *Fusarium cepae* を用い，sulfamine, acetosulfamine, sulzol-s, homosulfamine の影響に関する実験を行つた．

2. sulfamine, acetosulfamine 及び homosulfamine の供試菌分生胞子発芽に及ぼす影響は，acetosulfamine が最も強く，10^{-2} mol に於て約 50 % の抑制を示した．

3. Richards 液に 15 日間培養した場合，95% 発育抑制濃度は，sulfamine 7.89×10^{-3} mol, acetosulfamine 8.50×10^{-3} mol, sulzol-s 2.98×10^{-3} mol であつて，この場合 sulfamine は acetosulfamine より強い効果をあらわして，発芽の場合と逆の結果を示している．従つて薬剤処理時間又は日数が薬剤の効力判定に特に注意を要するものと思われる．

4. sulfamine 剤の *Fusarium cepae* に対する発育抑制作用と化学構造との関係は，今日迄に細菌について行われた研究結果と略々一致するものと思われ，sulfamine 原型の N^1 に異項環基を結合した sulzol-s が最も強い抑制作用をあらわした．

5. sulfamine 10^{-2} mol 添加培養の *Fusarium cepae* の呼吸は添加後30分迄の測定では殆んど抑制をうけない．

引用文献

1. HARTELIUS, V.: Cpt. rend. trav. labr. Carlsberg, sér. physiol. 24 : 178—184, 1946.
2. ——, and K. ROHOLT: Cpt. rend. trav. labr. Carlsberg, sér. physiol. 24 : 163—171, 1946.
3. HASSEBRAUK, K.: Phytopath. Ztschr., 19(1): 56—78, 1952.
4. 石館守三・岡野定輔：薬学雑誌，69 : 525, 1949.
6. 河野達郎：防虫科学，16(1) : 62—74, 1951.
6. LONG, P. H.: A-B-C' s of sulfanamide and antibiotic therapy 1948.
7. MITCHELL, J. E.: Phytopath., 40(9) : 869, 1950.
8. ROBBINS, W. J. and R. MA: Science, 100 : 85—86, 1944.
9. RUBBO, S. D. and J. M. GILLESPIE: Nature, 146 : 838—839, 1940.
10. SPINK, Wosky W.: Sulfanilamide and related compounds in general practice. 1949.
11. 田中彰一：日本植物病理学会報，11 (1) : 47—49, 1946.
12. TATUM, E. L. and A. C. GIESE: Arch. Bioch., 9 : 15, 1946.
13. 鶴岡正夫：薬学雑誌，71(5) : 336—356, 1951.
14. WOLF, F. T.: NICKERSON: Biology of pathogenic fungi. 91—105, 1947.
15. WOODS, D. D.: Brit. Jour. Exptl. Path. 21 : 74—90, 1940.
16. 柳田友道：酵素化学の進歩，1 : 285—326, 1949.

Résumé

1. In the present paper, the writer described the result of the experiments on the effect of sulfanilamide upon the growth of *Fusarium cepae* which was isolated from diseased onion bulb. Four sulfanilamides were used; sulfamine, acetosulfamine, sulzol-s, and homosulfamine.

2. The germination test of conidia of the present fungus was performed using sulfamine, acetosulfamine and homosulfamine. After incubating five hours under 28 °C., the germination per centage was measured. Among the three, acetosulfamine was most effective, showing 50 % inhibition of the germination in 10^{-2} mol solution.

3. After culturing for fifteen days in Richards' solution, the concentration of sulfanilamide solution, in which 95 per cent inhibition of

ycelial growth (LD 95) was shown, was termined. It was 7.89×10^{-3} mol in sulfamine, 50×10^{-3} mol in acetosulfamine, and 2.98×10^{-3} ol in sulzol-s solutions. In this case sulfamine as more effective than acetosulfamine.

4. The relation between the inhibitive action sulfanilamide on the growth of *Fusarium cepae* d its chemical structure almost agreed with the data performed on bacteria up to the present. Sulzol-s, a substitution of heterocyclic group in N^1 position of sulfamine, enhanced the inhibitive action.

5. The respiration of *Fusarium cepae* was not inhibited when 10^{-2} mol solution of sulfamine was added in Richards' solution.

フエニール醋酸水銀の 2, 3 木材腐朽菌菌糸発育に及ぼす影響

赤 井 重 恭 ・ 上 山 昭 則

Akai, Shigeyasu and Akinori Ueyama :
Effect of phenylmercuryacetate upon the mycelial growth of some wood-destroying fungi.

フエニール醋酸水銀 ($C_6H_5HgOCOCH_3$) の木材腐朽菌菌糸発育に対する影響に関しては，既に報告せられたものもあるが，筆者等は下記7種の腐朽菌に就いて寒天培養法を用いて比較したので，その結果を簡単に報告する.

先ず常法に従つて作成した1% 蔗糖加用麦芽煎汁寒天90 ml. を用意し，フエニール醋酸水銀水溶液を加えて100 ml. にし，全体として所要濃度になるようにした．而してこれ等を殺菌（1.0気圧）後，ペトリ皿に分注して，あらかじめ 28 °C. で2週間培養した菌糸の少量を植えつけ，28 °C. に保つた．菌糸発育は直角の2方向に計つた菌叢直径（mm.）の平均を以つて比較したが，1区 3—4 枚のペトリ皿を用い2回行つた．結果は次表の如くである．

フエニール醋酸水銀の濃度と菌糸発育との関係

供試菌名*	濃度 %	培養日数 3	6	9
シイタケ *Cortinellus shiitake*	10×10^{-4}	—	—	—
	4×10^{-4}	—	—	—
	2×10^{-4}	—	—	—
	10^{-4}	—	—	6
	0	16	34	56
ミヤマウロコタケ *Stereum induratum*	10×10^{-4}	—	—	—
	4×10^{-4}	—	—	—
	2×10^{-4}	—	—	5
	10^{-4}	—	—	15
	0	10	22	35
ツガサルノコシカケ *Fomitopsis (Fomes) pinicola*	10×10^{-4}	—	—	—
	4×10^{-4}	—	—	—
	2×10^{-4}	—	—	—
	10^{-4}	—	—	5
	0	23	51	69
クモタケ *Coriolus (Polystictus) versicolor*	10×10^{-4}	—	—	—
	4×10^{-4}	—	—	—
	2×10^{-4}	—	—	—
	10^{-4}	3	8	10
	0	46	78	78
ホウロクタケ *Trametes dickinsii*	10×10^{-4}	—	—	—
	4×10^{-4}	—	—	—
	2×10^{-4}	—	4	9
	10^{-4}	5	14	18
	0	26	60	78
ヒイロタケ *Tramates (Polystictus) sanguinea*	10×10^{-4}	4	8	10
	4×10^{-4}	10	25	35
	2×10^{-4}	19	46	58
	10^{-4}	27	64	77
	0	43	78	78
ヒメシロアミタケ *Trametes albida*	10×10^{-4}	—	—	—
	4×10^{-4}	—	—	—
	2×10^{-4}	—	—	7
	10^{-4}	6	14	19
	0	27	69	78

—發育せず

寒天培養基上に於ける菌糸の発育速度は菌の種類によつて異るので，薬剤に対する影響を直ちに判断することは困難であるが，実験の範囲内に於ける菌糸発育限界（阻止）濃度はほぼ次の如くである．而してヒイロタケが最も供試薬剤に対して抵抗性である．

ヒイロタケ $> 10\times10^{-4}$ %（10万倍）

4×10^{-4} %（25万倍）$>$ {ホウロクタケ, ヒメシロアミタケ, ミヤマウロコタケ} $> 2\times10^{-4}$ %（50万倍）

2×10^{-4} %（50万倍）$>$ {クモタケ, シイタケ, ツガサルノコシカケ} $> 10^{-4}$ %（100万倍）

上記の限界濃度を他の水銀化合物と比較すると，$HgCl_2$ に対してはフエニール醋酸水銀は更に低濃度で菌糸発育を阻止し，又フエニール塩化水銀，フエニール硝酸水銀等と同程度の効果を有する**.

稿を終るに当り，フエニール醋酸水銀を恵与下された三共株式会社，桑田五郎博士に感謝の意を表する．

（京大 植病, no. 34）

* 今関六也：東京科学博物館報告，第6号，1943.

** 笠井幹夫・田村隆：木材の耐久，306—311，東京，1944.

Pentachlorophenol-Na 塩の 2, 3 木材腐朽菌に対する影響*

赤井重恭・上山昭則・達山和紀

AKAI, Shigeyasu, Akinori UEYAMA, and Kazunori TATSUYAMA :
Effect of sodium pentachlorophenate upon some wood-destroying fungi.

Pentachlorophenol は木材防腐剤として最近その効果が論ぜられ，既存の Creosote 等の防腐剤と同程度或はそれ以上の効果が期待せられるように報告せられている(5). 併しそれ等の結果を見ると，多くは寒天培養法を用いて得られたものであつて，その腐朽菌発育阻止濃度は 0.002% 附近にあるもののようである(4). 併し，防腐剤の実用的価値を判断するに当つて，培養法による結果と材片を適用した場合とは屢々一致しない事が報告せられており，米国に於ても Pentachlorophenol (P. C. P.) の材注入には 5% の高濃度溶液が使用せられている. 従つて実用に際して，5% 以下の濃度で使用不可能とすれば，寒天培養法で得られた結果は余り高く評価することができない. 筆者等は以上の関係を明かにするため，寒天培養法と材片法とを併用して，比較検討することにした. 実験は昭和26年7月から同27年12月に亘つて行つたものである.

起稿に当り，圧縮強度測定に便宜を与えられた京大木研，杉原助教授に感謝の意を表する.

実験材料

供試 P. C. P.-Na 塩は米国 Monsanto 会社製であつて，商品名を Santobrite と称し，水に対する溶解度は 26.1% (25°C.) である. 而して供試木材腐朽菌にはいづれも筆者等の研究室保存のものを使用したが，白色朽を基因するリグニン溶解菌としてはヒイロタケ (*Trametes* (*Polystictus*) *sanguinea*), スエヒロタケ (*Schizophyllum Commune*) を，又褐色朽を基因する繊維素溶解菌としてツガサルノコシカケ (*Fomitopsis* (*Fomes*) *pinicola*), ヒロハノキカイガラタケ (*Gloeophyllum* (*Lenzites*) *subferrugineum*) 及びホウロクタケ (*Trametes dickinsii*) を使用した**.

実験結果

1. 寒天培養法　先ず1%蔗糖加馬鈴薯煎汁寒天(pH 5.8) 90 ml. を用意し，残りの 10 ml. を P. C. P.-Na 塩水溶液で補い，全体を 100 ml. として P. C. P.-Na 塩の所定濃度になるようにした. 而して寒天の固化後，その中央に供試菌の菌糸1片を植えつけ，26°C. の暗定温器中に保つて，毎日その菌叢直径を測定した. 尚 P. C. P.-Na 塩の濃度による培養基の pH 変化は殆んど認められなかつた. 結果は第1表の通りである.

第1表　P.C.P-Na の濃度と菌糸発育との関係
(3回実験結果平均)

供試菌別	P.C.P.-Na 濃度 %	培養日数 (日) 1	3	5	7	9
スエヒロタケ	0	*±	29	50	71	−
	0.0005	−	6	11	16	23
	0.001	−	±	6	8	10
	0.002	−	−	−	±	5
	0.003	−	−	−	−	+
	0.004	−	−	−	−	±
	0.005	−	−	−	−	−
ヒイロタケ	0	*−	20	49	75	−
	0.0005	−	5	16	30	43
	0.001	−	±	8	17	27
	0.002	−	−	−	−	−
	0.003	−	−	−	−	−
ツガサルノコシカケ	0	*−	17	35	56	72
	0.00025	−	±	15	25	37
	0.0005	−	−	−	9	17
	0.0006	−	−	−	−	−
ヒロハノキカイガラタケ	0	*−	11	32	52	69
	0.00025	−	+	15	23	29
	0.0005	−	−	+	10	14
	0.0006	−	−	−	−	±
	0.0007	−	−	−	−	−

* 菌叢直径　mm.

第1表の結果から供試薬剤の最低菌糸発育阻止は濃度

* 京都大学木材研究所，木材生物，第2研究室業績，第13号（植病第57号）

** 学名は今関六也：東京科学博物館報告，第6号，1943 による.

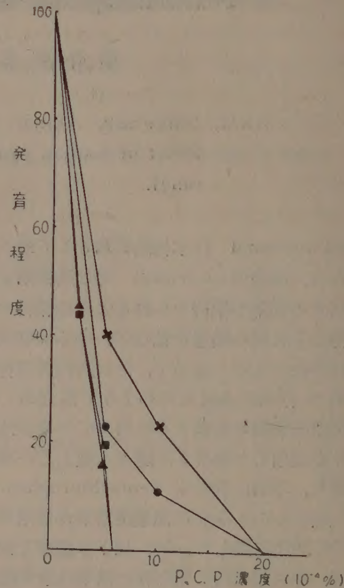
それぞれ下記の如くである.

スエヒロタケ　　0.005%（2万倍稀釈）
ヒイロタケ　　0.003%（3.3万倍稀釈）
ツガサルノコシカケ　　0.0006%（約16.7万倍稀釈）
ヒロハノキカイガラタケ　　0.0007%（約14.3万倍稀釈）

従つて本実験の範囲に於て，ツガサルノコシカケ，ヒロハノキカイガラタケ等の褐色朽を基因する菌類は白色朽を基因するスエヒロタケ及びヒイロタケ等よりも P.C.P-Na に対する抵抗力が弱く，その発育阻止濃度は低い．而してヒイロタケの抵抗力が最も強い（第1図）．しかし，P.C.P. は *Aspergillus niger* の Cellulase 活性を顕著に阻害しないといわれているから(6)，以上の結果から直ちに P.C.P. がセルローズ溶解菌に対して特に著しい作用を及ぼすとは称し難い．尚樋口等(3) は腐朽菌に対する本剤の生育阻害は主として呼吸阻害であることを推定している．

2.　材片法　常法によつて調製した麦芽煎汁寒天培養基を 75 ml. 宛三角罎に分注し，その上に供試菌を移植した．それらは 28°C. の定温器内に保つて菌糸が充分発育した後，材片を投入した．これらの材片は四方柾取り 2×2×4 cm. の大さの杉心材であるが，培養基上には繊維方向を水平にして並べ，ヒイロタケは 32°C.，ホウロクタケは 28°C. に保つて腐朽せしめた．尚材片は投入前4日間 28°C. 下で各種濃度の薬液或は蒸溜水に浸漬して，高圧殺菌したものである．90日間経過後それ等材片を取出し，材表面の菌糸を除いて乾燥せしめ，圧縮強度減少率を求めて P.C.P-Na の効果を判定した（第2表）．

一般にホウロクタケ（研究室保存番号64）の腐朽適温帯は 28°C. 附近にあるが，ヒイロタケ（66号）の夫はやや広く，且つ高い（36°～40° 附近に最適点を有する）(2)．上述の実験に於ては，ヒイロタケ 32°C.，ホウロクタケ 28°C. で行つたが，スギ心材に対する腐朽力はホウロクタケが概して強い．而して P.C.P.-Na の効果は，この腐朽試験の範囲内で，ホウロクタケに於ては 1% 以上，ヒイロタケに於ては 0.2% 以上の濃度で腐朽菌の攻撃を阻止し，一応防腐の目的を達しているよう



第1図　培養基中のpentachlorophenol の濃度と培養7日後の発育程度（標準区に對する%）
—●— スエヒロタケ
—×— ヒイロタケ
—▲— ツガサルノコシカケ
—■— ヒロハノキカイガラタケ

第2表　材片法による P.C.P.-Na の効果（スギ心材）

P.C.P.-Na 濃度 %	ホウロクタケ*			ヒイロタケ*		
	圧縮強度 kg/cm²	残存率 %	腐朽状態	圧縮強度 kg/cm²	残存率 %	腐朽状態
5	631	100.6	腐朽しない	504	100.6	腐朽しない
1	620	98.8	腐朽しない	498	99.4	腐朽しない
0.2	496	79.1	菌糸はうすく材片を蔽う．子実体形成．	517	103.2	腐朽しない
0.04	486	77.5	菌糸は全体を蔽う．	435	86.8	腐朽部分は白色を呈す
0	233	37.2	材に歪を生ずる．子実体発生	362	72.3	菌糸は全体を蔽い，良く腐朽する．
無処理 無接種	627	100.0		501	100.0	

＊各区に使用したスギ心材片は異る材から製作したので，同一樹の材ではない．

である．しかし前記培養法と比較すると，材片法では相当高濃度でなければ効果がないことが明かである．このことは青島(1)のマツ箱材の青変防止試験の結果からも明かである．勿論 P.C.P-Na を実用化するためには，更に安定度試験などを行う必要があるが，我々の実験結果及び上記青島等の結果(1)から綜合すると，5% という濃度は P.C.P.-Na の実用化にはまず妥当なものであろう．更にその流亡 (leaching) 及び揮散 (evaporation) を防ぐような適当且つ廉価な溶媒の研究も必要である．

最後に防腐剤の効力判定には少くとも培養法と材片法を併用して比較する必要があることを強調したい．

引用文献

1. 青島清雄・林　康夫： 林試集報, 64 : 83−90, 1952.
2. 赤井重恭・上山昭則： 未発表原稿.
3. Higuchi, T., M. Watanabe and H. Tamura : Jour. Jap. Froest Soc. 35(1) : 1−8, 1953.
4. Hunt, G. M. and G. A. Garratt : Wood Preservation, 1938.
5. Monsanto Technical Bull. No. 0−23, 1946.
6. Sumner, J. B. and K. Myrdäck : The Enzyme 1(2) : 732, 1951.

植物病害研究　第5集，第1號

昭和29年5月25日　印刷
昭和29年6月1日　發行

京都大學農學部植物病理學研究室內
編集兼發行者　京都植物病學研究會
振替口座　京都三六九五番
代表者　赤井重恭

京都市下京區松原通高倉東入
印刷所　株式會社　芳文堂印刷所